

Aus der Klinik für Anästhesiologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Zwißler

aus der Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Leiter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Schramm

**Laborchemisches Monitoring des direkten Thrombinhemmers  
Bivalirudin bei elektiver perkutaner transluminaler  
Koronarangioplastie (PTCA)**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

A. Jawid Omary

aus Kabul/Afghanistan

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

**Berichterstatter:** Prof. Dr. med. M. Spannagl

**Mitberichterstatter:** Prof. Dr. Berthold Höfling

**Mitbetreuung durch den:  
promovierten Mitarbeiter** Dr. med. A. Calatzis

**Dekan:** Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

**Tag der mündlichen Prüfung:** 28.10.2010

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>6</b>
1.1	Thrombin und dessen Rolle im Gerinnungsprozess	7
1.2	Direkte Thrombininhibitoren	11
1.2.1	Überblick	11
1.2.2	Bivalirudin	13
1.2.2.1	Substanz und Wirkung	13
1.2.2.2	Pharmakokinetik	14
1.3	Vergleich zu Heparin	16
1.4	Klinische Studien mit Bivalirudin	18
1.4.1	BAT-Studie	18
1.4.2	Cachet-Studie	19
1.4.3	REPLACE-1-Studie	20
1.4.4	REPLACE-2-Studie	21
1.4.5	ACUITY-Studie	22
1.5	Laborchemisches Monitoring von Thrombininhibitoren	23
1.6	Zielsetzung der Arbeit	26
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>27</b>
2.1	Instrumente	27
2.2	Reagenzien und Testdurchführung	30
2.2.1	Activated clotting time – ACT	30
2.2.2	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit – aPTT	31
2.2.3	PFA-100 ADP/Kollagen-Thrombozytenfunktionsmessung	33
2.2.4	ROTEM (in-TEM)	34

2.2.5	<i>Ecarin clotting time – ECT</i> .....	36
2.2.6	<i>Prothrombinase induced clotting time – PiCT</i> .....	37
2.3	Proben .....	38
2.4	Datenanalyse .....	38
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>39</b>
3.1	Patientencharakterisierung .....	39
3.2	Laborchemisches Monitoring der Bivalirudinpatienten .....	39
3.2.1	<i>Activated clotting time (ACT) – Monitoring</i> .....	39
3.2.2	<i>Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)- Monitoring</i> .....	41
3.2.3	<i>ROTEM/ in-TEM Thromboelastometrie – Monitoring</i> .....	42
3.2.4	<i>Ecarin clotting time (ECT) – Monitoring</i> .....	46
3.2.5	<i>Prothrombinase induced clotting time (PiCT) – Monitoring</i> .....	47
3.2.6	<i>Einflußvariablen als Ursache der interindividuellen Variabilität</i> .....	48
3.3	Korrelation der unterschiedlichen Monitoringverfahren der Bivalirudinpatienten .....	50
3.3.1	<i>Korrelation activated clotting time (ACT) / aPTT</i> .....	50
3.3.2	<i>Korrelation activated clotting time (ACT) / ROTEM (in-TEM) clotting time</i> .....	50
3.3.3	<i>Korrelation activated clotting time (ACT) / ecarin clotting time (ECT)</i> .....	51
3.3.4	<i>Korrelation activated clotting time (ACT) / ecarin clotting time (ECT)</i> .....	51
3.3.5	<i>Korrelation aPTT / ecarin clotting time (ECT)</i> .....	52
3.3.6	<i>Korrelation aPTT / prothrombinase induced clotting time (PiCT)</i> .....	52
3.3.7	<i>Korrelation ecarin clotting time (ECT) / prothrombinase induced clotting time (PiCT)</i> .....	53
3.4	Laborchemisches Monitoring der Heparinpatienten .....	54
3.4.1	<i>Activated clotting time (ACT) – Monitoring</i> .....	54
3.4.2	<i>Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)- Monitoring</i> .....	55
3.4.3	<i>ROTEM/ in-TEM Thromboelastometrie – Monitoring</i> .....	56
3.4.4	<i>Korrelation ACT / aPTT</i> .....	59

3.5	Einfluss auf die thrombozytäre Funktion in-Vivo .....	60
3.5.1	<i>Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Bivalirudin .....</i>	<i>60</i>
3.5.2	<i>Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Heparin .....</i>	<i>61</i>
3.6	In-Vitro-Diagnostik .....	62
3.6.1	<i>Dosis-Wirkungs-Kurven des Bivalirudin .....</i>	<i>62</i>
3.6.2	<i>Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Bivalirudin in-Vitro .....</i>	<i>64</i>
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>65</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>78</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>79</b>
<b>9</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>81</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>84</b>
<b>11</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>85</b>

# 1 Einleitung

Die perkutane transluminale Koronarangioplastie, PTCA, ist heutzutage ein essentieller Bestandteil der Diagnostik und Therapie bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung, KHK. Diese Patienten erhalten eine präventive, antithrombotische Therapie, um eingriffsbedingte ischämische und thrombotische Komplikationen zu verhindern.

Thrombin, welches eine zentrale Rolle im Hämostaseprozess spielt, stellt einen entscheidenden Ansatzpunkt für die Pharmakotherapie zur Verhinderung thrombotischer Komplikationen dar (10, 16). In den letzten Jahren wurde ein vermehrtes Interesse auf die Möglichkeiten einer direkten Thrombinantagonisierung gelegt, um so möglichst selektiv und effizient in den Gerinnungsprozess eingreifen zu können (2, 5, 31, 43).

Perioperativ sowie periinterventionell spielen hierbei vor allem hämostaseologische Point-of-care (POC)-Verfahren eine entscheidende Rolle, welche ihren Weg, sowohl im klinischen Alltag, in Diagnostik und Therapie, als auch im Selbstmanagement der Patienten, gefunden haben (14, 65). Das Spektrum der dabei verfügbaren Methoden erstreckt sich von einfachen Instrumenten zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung, über Thrombozytenfunktionstests bis hin zu komplexen viskoelastischen Analyseverfahren (14, 65). Der entscheidende Vorteil der POC-Analyseverfahren ist hierbei die schnelle Verfügbarkeit der Ergebnisse mit der Möglichkeit einer zielgerichteten, therapeutischen Intervention sowie Optimierung der notwendigen Dosisanpassung, welche beispielsweise im Rahmen einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie, periinterventionell, zwingend erforderlich ist.

Das seit September 2004 in Deutschland zugelassene Hirudin-Analogon, Bivalirudin (Angiox®, Nycomed), ein direkter, reversibler Thrombininhibitor, geht im Vergleich zu unfractioniertem Heparin (UFH), der bisherigen Standardmedikation, mit einem besseren Schutz vor ischämischen Ereignissen, bei gleichzeitig reduziertem Blutungsrisiko einher (22, 29, 40).

In dieser Arbeit soll die Wirkung des Bivalirudin anhand von Proben elektiver PTCA-Patienten, hinsichtlich laborchemischer Parameter sowie Thrombozytenfunktionsmessungen, evaluiert werden. Diese Proben werden in verschiedenen gerinnungsphysiologischen Meßmethoden miteinander verglichen und korreliert.

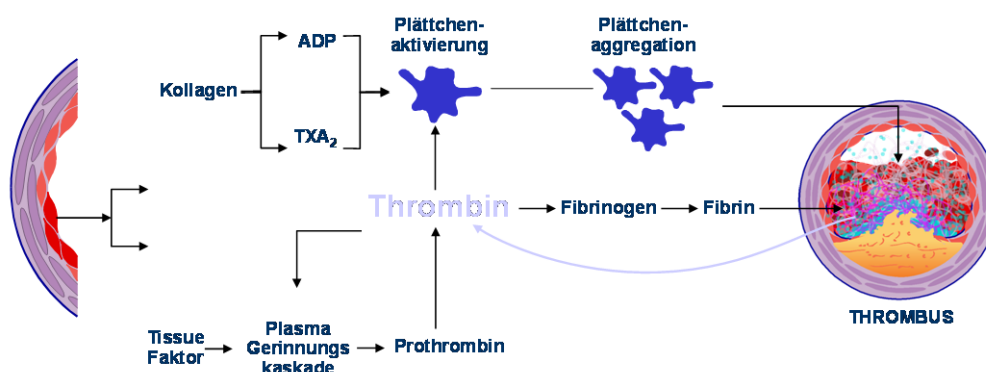
Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Frage nach pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Faktoren sowie der mögliche direkte/indirekte Einfluss des Bivalirudin auf die Thrombozytenfunktion.

## 1.1 Thrombin und dessen Rolle im Gerinnungsprozess

Gerinnungsprozesse basieren auf komplexen Interaktionen zwischen dem Endothel, zellulären Blutbestandteilen und den plasmatischen Gerinnungsfaktoren (39). Gefäßverletzungen führen zur Aktivierung einer Kaskade, die auf aufeinanderfolgenden, proteolytischen Reaktionen basiert, und zur Bildung des Enzyms Thrombin (F IIa) führt. Thrombin übernimmt in der Hämostase eine zentrale Rolle (39). Als Serinprotease katalysiert es die Umwandlung von Fibrinogen (F I) zu Fibrin (F Ia), aktiviert Thrombozyten und besitzt autokatalytische Eigenschaften, indem es durch die Aktivierung der Gerinnungsfaktoren Faktor V (F V), Faktor VIII (F VIII) und Faktor X (F X), Faktor XI (F XI) seine eigene Aktivierung, und damit den Hämostaseprozess, beschleunigt (39, 46).

Das klassische Gerinnungsmodell bestehend aus einer getrennten intrinsischen und extrinsischen Kaskade (sekundäre Hämostase) und der damit nur begrenzt interagierenden thrombozyteninduzierten Hämostase (primäre Hämostase), wird heute abgelöst durch ein komplexes, ineinandergreifendes, zellbasiertes Modell der Gerinnung, in dem Thrombin die zentrale Rolle einnimmt (7). (siehe Abb.1)

### Die zentrale Rolle des Thrombins bei der Thrombusbildung



34

Abbildung 1 : Das heutige Koagulationsmodell adaptiert nach Becker et al, J Invas Cardiol. 2003 und Narayanan S. et al, Ann Clin Lab Sci 1999;29:275-280

Die Initialisierungsphase der Gerinnung beginnt mit der Freisetzung des tissue factors<sup>1</sup> (TF) als Folge einer Gefäßendothelläsion. Dieser bindet darauf Faktor F VIIa, der sich in geringen Mengen im zirkulierenden Blut befindet. Durch die weitere Aktivierung der Faktoren F Xa und F IXa kommt es zur Bildung geringer Mengen an Thrombin (7, 39, 46). Es sind weniger als 1% der maximalen Thrombinbildung ausreichend, die nachfolgenden Schritte im Gerinnungsprozess einzuleiten. Neuere Studien zeigen, dass ca. 96% des Thrombin erst dann gebildet wird nachdem das Gerinnsel bereits sichtbar ist (11).

Der Zweck des Hämostaseprozesses liegt somit nicht, wie lange angenommen, in der Bildung von Fibrin, sondern in der Bildung von Thrombin (7).

In der Verstärkungsphase, oder Amplifikationsphase, führt diese geringe Menge Thrombin zur Thrombozytenaggregation mit Adhäsion an die Gefäßendothelläsionsstelle und Freisetzung der in den alpha-Granula gespeicherten Substanzen. Thrombin aktiviert desweiteren auch die Faktoren F V, F VIII und F XI, die sich an die Thrombozytenoberfläche heften und den F XIII, über den lösliche Fibrinmonomere quervernetzt werden und so den Thrombus stabilisieren (7, 39, 46).

Die Propagationsphase ist durch die Anlagerung der Faktoren F IXa und F Xa an die an der Thrombozytenoberfläche angelagerten Faktoren F Va und F VIIIa gekennzeichnet (39, 46).

Der daraus entstandene FV-FXa-Calzium-Phospholipid-Komplex, sog. „Prothrombinasekomplex“, generiert aus der Vorstufe Prothrombin immer mehr Thrombin, welches die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen, dessen Polymerisation, und damit die Blutgerinnung katalysiert.

Wenn Fibrinogen zu Fibrin umgewandelt wird, bleibt Thrombin als fibrin gebundenes Thrombin enzymatisch aktiv. Dieses ist jedoch nun gegen Inaktivierung durch Inhibitoren, wie z.B. Heparin, geschützt. Dieser Bestand an aktivem Thrombin macht das Blutgerinnsel extrem thrombogen (7, 39, 46).

---

<sup>1</sup> Beim sogenannten Tissue Faktor handelt es sich um ein aus verletzten, subendothelialen Gewebezellen freigesetztes, glykosiliertes Membranprotein. Er wird bei Gefäßverletzungen somit immer freigesetzt und aktiviert die Blutgerinnung. (Wilcox JN, 1989)



## Thrombin als Schlüsselenzym der Thrombozytenaktivierung

Zu Thrombins wichtigsten prokoagulatorischen Eigenschaften gehört die Aktivierung der Blutplättchen als der stärkste uns bekannte natürliche Aktivator (3). Es wirkt und kontrolliert direkt die thrombozytäre Funktion über den sog. „PAR-Rezeptor“<sup>2</sup> (protease activated receptor). Bei diesem handelt es sich um einen 7-transmembran-Rezeptor, der durch die Anlagerung von Thrombin einen in der Natur einzigartigen Mechanismus in Gang setzt (8, 45).

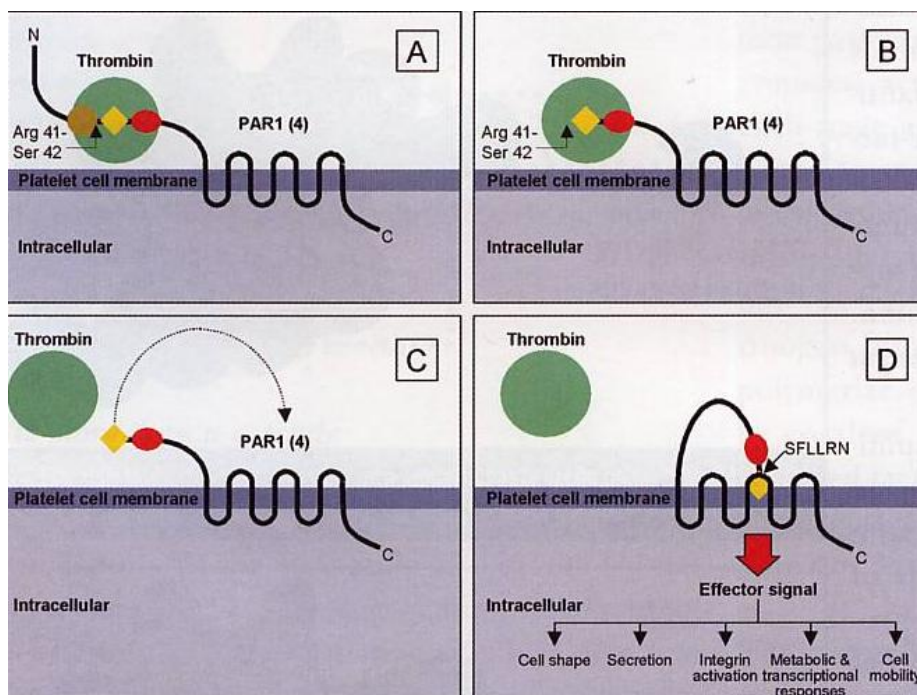


Abbildung 2: Mechanismus der PAR-Aktivierung durch Thrombin adaptiert nach Coughlin et al, Nature 2000; 407: 258-264

Nach Anlagerung an den PAR-Rezeptor, spaltet Thrombin den N-terminalen Bereich (Aminosäuresequenz: Arg41-Ser42) unter Bildung eines neuen N-Terminus, ab. Diese Änderung bewirkt ein autokatalytisches Effektorsignal mit darauffolgender Signaltransduktion in das Zellinnere des Thrombozyten (45). (siehe Abb.2)

<sup>2</sup> Bis heute sind vier PAR-Rezeptor-Subtypen identifiziert worden, von denen nur PAR1 und PAR 4 auf menschlichen Thrombozyten präsentiert werden. Studien lassen annehmen, daß PAR 1 Rezeptoren bei geringen Thrombinkonzentrationen aktiviert werden und somit für die sehr schnelle Plättchenantwort verantwortlich sind, während die PAR 4 Rezeptoren bei höheren Thrombin-Konzentrationen für die lange Wirkung und Stabilität verantwortlich sind. (Ashby B CR et al. 2001 ; Oforu F 2003)

Folge davon ist eine Konformationsänderung des Thrombozyten, die Freisetzung der Granulainhaltsstoffe, die Aktivierung von Integrinen, eine Erhöhung der Zellmobilität und eine Reihe weiterer intrazellulärer Stoffwechselprozesse (7, 39, 46).

### Eigenschaften des freien und gerinnsselgebundenen Thrombins

1. **Aktiviert Thrombozyten** und trägt damit zur Bildung eines thrombozytenreichen Gerinnsels bei
2. **Spaltet Fibrinogen in Fibrin**, welches das Blutgerinnsel festigt
3. **Verstärkt die Thrombinbildung** durch die Aktivierung der Faktoren V, VIII, XI
4. **Stabilisiert das Fibringerinnsel** durch die zusätzliche Aktivierung des Faktors XIII

Tabelle 1: Eigenschaften des freien und gerinnsselgebundenen Thrombins

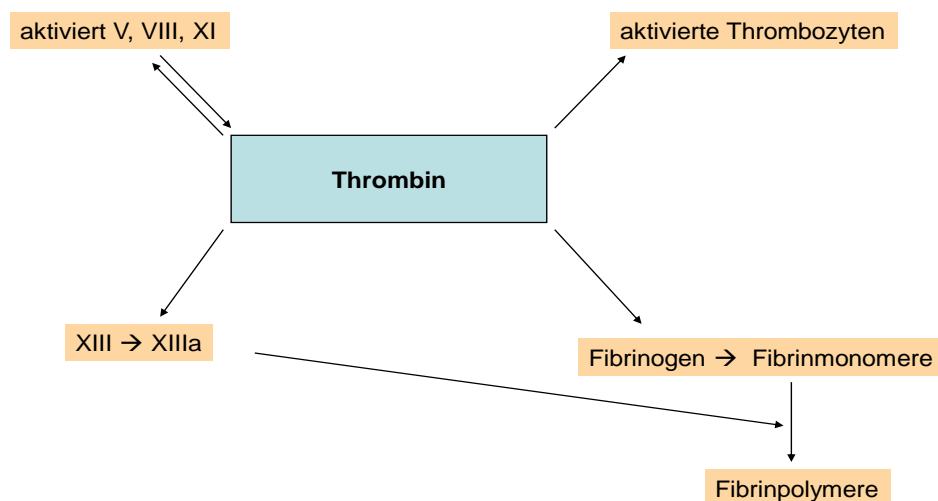


Abbildung 3: Eigenschaften des freien und gerinnsselgebundenen Thrombins

Thrombin stellt somit pharmakologisch, vor allem im Hinblick auf die interventionelle Medizin, sowohl bei der Verhinderung einer Thromboseentwicklung, als auch zur Verhütung von Blutungskomplikationen, einen entscheidenden Ansatzpunkt dar. Tabelle 1 und die Abbildung 3 zeigen zusammengefasst die Eigenschaften des freien und gerinnsselgebundenen Thrombins.

## 1.2 Direkte Thrombininhibitoren

### 1.2.1 Überblick

Direkte Thrombininhibitoren gehören zu einer neueren Klasse von Antikoagulantien, deren Wirkung auf einer Antithrombin III - unabhängigen Hemmung von Thrombin beruht. Sie binden an Thrombin und blockieren dessen Interaktion mit seinen vielen, verschiedenen Substraten (13, 21, 25, 32, 43, 52).

Direkte Thrombininhibitoren (DTI) können in zwei verschiedene Gruppen unterteilt werden. Zum einen in univalente DTI, wie Melagatran oder Argatroban, welche nur an das aktive (= katalytische) Zentrum des Thrombin binden. Und zum anderen in die bivalenten DTI zu denen die Hirudin-Derivate, wie Lepirudin oder Desirudin, und die Hiruloge, wie Bivalirudin, zählen. Diese bivalenten DTI interagieren mit Thrombin durch Bindung an sowohl das aktive Zentrum (= katalytisches Zentrum), als auch an die Exosite-1 (=Fibrinogenbindungsstelle), und sind somit durch eine sehr hohe Affinität und Spezifität gegenüber Thrombin gekennzeichnet (57).

Direkte Thrombininhibitoren blockieren freies und gerinnselgebundenes Thrombin wobei die Blockade von fibrin gebundenem Thrombin für die DTI unterschiedlich ausgeprägt ist.

Der Prototyp der direkten Thrombinantagonisten ist das natürlich vorkommende Hirudin (n-Hirudin), welches aus Blutegeln (*Hirudo medicinalis*) isoliert wird. Es handelt sich hierbei um ein aus 65 Aminosäuren bestehendes Polypeptid, das an Tyr-63 sulfatiert ist.

Die rekombinanten Hirudine (r-Hirudin), Lepirudin und Desirudin, sind an Position 63 nicht sulfatiert.

Beim Bivalirudin handelt es sich um ein aus 20 Aminosäuren bestehendes Polypeptid. Darüber hinaus sind kleinmolekulare, synthetisch hergestellte DTI, wie Efegatran, Inogatran, Melagatran und Argatroban in der klinischen Evaluation (6, 19, 23, 26, 44). Tabelle 2 zeigt einen Überblick über die verschiedenen direkten Thrombininhibitoren in Bezug auf das Molekulargewicht, den Wirkmechanismus, die Affinität zu Thrombin und die Applikationsform.

N-Hirudin wird hauptsächlich über die Niere eliminiert. Da ein spezifisches Antidot nicht verfügbar ist und die klinische Anwendung aufgrund der schlecht zu beherrschenden Blutungskomplikationen nicht weit verbreitet ist, wurden die r-Hirudine entwickelt.

Bivalirudin zeichnet sich gegenüber den r-Hirudinen durch eine kürzere Halbwertszeit aus (25 min vs. 80 min) und wird nicht renal, sondern hauptsächlich über endogene Proteasen abgebaut, welches somit den Einsatz, vor allem bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion, sicherer gestaltet. Ein weiterer wichtiger Unterschied zu den Hirudin-Derivaten besteht darin, dass Bivalirudin eine geringe Immunogenität aufweist (8, 32, 38, 48, 51, 57, 61).

## Vergleich von direkten Thrombininhibitoren

Thrombininhibitor	Molekülgewicht (Da)	Hemmmechanismus	Affinität zu Thrombin (Ki)	Applikation
<b>Lepirudin</b>	6.980	direkt, bivalent, irreversibel	60 fM	i.v., s.c.
<b>Desirudin</b>	6.960	direkt, bivalent, irreversibel	200 fM	i.v., s.c.
<b>Bivalirudin</b>	2.180	direkt, bivalent, reversibel	1.9 - 2.3 nM	i.v., s.c.
<b>Argatroban</b>	527	direkt, univalent, reversibel	5 nM	i.v.
<b>Heparin</b>	15.000	<b>indirekt</b> , über Antithrombin III	-----	i.v., s.c.

Tabelle 2: Vergleich von direkten Thrombininhibitoren

## 1.2.2 Bivalirudin

### 1.2.2.1 Substanz und Wirkung

Bivalirudin ist ein spezifischer und reversibler, direkter Thrombinhemmer. Es handelt sich um ein synthetisch hergestelltes, 20-Aminosäuren langes Peptid mit einem Molekulargewicht von 2180 Dalton.

Seine Wirkung erfolgt direkt durch Bindung sowohl an das aktive Zentrum, als auch an die Exosite-1, unabhängig davon, ob Thrombin in der freien oder gerinnselgebundenen Form vorliegt und unabhängig von Co-Faktoren. Darüber hinaus ist seine Wirkung reversibel, weil Thrombin seinerseits die Bindung von Bivalirudin-Arg3-Pro4 langsam aufspaltet, wodurch sich die Funktion des aktiven Zentrums von Thrombin regeneriert (38, 48, 51, 61).

Bivalirudin fungiert also anfänglich als vollständig nicht-kompetitiver Thrombininhibitor, geht jedoch im Laufe der Zeit in einen kompetitiven Inhibitor über. (siehe Abb. 4)

Hierdurch können die zu Beginn gehemmten Thrombinmoleküle mit anderen Gerinnungsfaktoren interagieren und, falls erforderlich, die Gerinnungskaskade auslösen.

In vitro Studien zeigen, dass Bivalirudin sowohl lösliches (freies) als auch gerinnselgebundenes Thrombin hemmt. Es bleibt somit wirksam und wird durch Produkte der Thrombozyten-freisetzungreaktion nicht neutralisiert (38, 48, 51, 61).

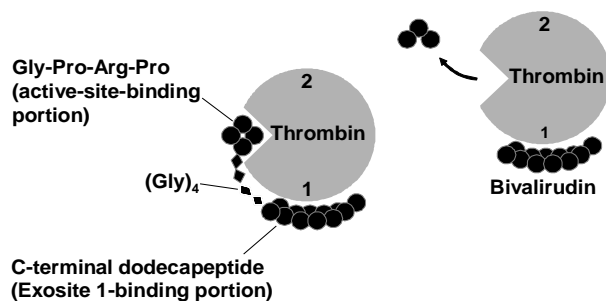


Abbildung 4: Wirkmechanismus von Bivalirudin (primär nicht-kompetitiver Inhibitor, sekundär kompetitiver Inhibitor)

Bivalirudin zeigt zudem eine lineare dosis- und konzentrationsabhängige antikoagulatorische Wirkung, die durch die Verlängerung verschiedener Parameter, im Rahmen des Hämostasemonitorings, wie beispielsweise der ACT (activated clotting time), aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit), PT (Prothrombinzeit), INR (international normalized ratio), TT (Thrombinzeit) und der Blutungszeit belegt wird (38, 48, 51, 61).

Im Gegensatz zu Heparin liegt die Ursache hierfür darin, dass Bivalirudin nicht an Plasmaproteine (außer Thrombin) oder Erythrozyten bindet. Eine intravenöse Anwendung führt somit innerhalb von wenigen Minuten zu einer messbaren Antikoagulation.

### **1.2.2.2 Pharmakokinetik**

Die pharmakokinetischen Eigenschaften des Bivalirudin wurden bei Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom evaluiert, die sich einer PTCA unterzogen. Die Bioverfügbarkeit bei intravenöser Anwendung ist vollständig und unmittelbar. Nach konstanter parenteraler Infusion von 2,5 mg/Kg/h liegt die mittlere „steady-state“-Konzentration bei 12,4 µg/ml (48).

Bivalirudin verteilt sich rasch zwischen Plasma und extrazellulärer Flüssigkeit und bindet weder an Plasmaproteine, ausgenommen Thrombin, noch an Erythrozyten. Es wird erwartet, dass im Zuge der Biotransformation das Peptid einen Katabolismus in seine Aminosäurebestandteile mit anschließender Wiederverwertung der Aminosäuren im Körper-Pool durchläuft (48).

Etwa 80% des Bivalirudin wird mit Hilfe von Proteasen, u.a. Thrombin, verstoffwechselt. Der primäre Metabolit, der aus der Spaltung der Arg3-Pro4-Bindung der N-terminalen Sequenz durch Thrombin resultiert, ist aufgrund des Verlustes seiner Affinität zum katalytischen Zentrum von Thrombin nicht mehr wirksam. Etwa 20% des Bivalirudins werden unverändert über den Urin ausgeschieden.

Die empfohlene Dosierung beträgt 0,75 mg/Kg als intravenöser Bolus, gefolgt von einer periprozeduralen Infusion von 1,75 mg/Kg/h (40). Die Elimination erfolgt bei Patienten mit einer normalen Nierenfunktion mit einer terminalen Halbwertszeit von 25+/-12 Minuten. (Clearance von 3,4 +/-0,5 ml/min/Kg)

Bei niereninsuffizienten Patienten nimmt die systemische Clearance mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) ab. Die Bivalirudin-Clearance ist bei Patienten mit normaler Nierenfunktion und Patienten mit leichter Niereninsuffizienz vergleichbar.

Bei Patienten mit mittelschwerer bis schwerer Niereninsuffizienz ist die Clearance um ca. 20%, bei dialysepflichtigen Patienten um ca. 80%, verringert (48, 51, 58, 59, 61). (siehe Tabelle 3)

Daher sollten v.a. bei Patienten mit vorbekannter, eingeschränkter Nierenfunktionsstörung, unter Behandlung mit Bivalirudin, Kontrollen von Gerinnungsparametern, wie beispielsweise der ACT (activated clotting time), während PTCA erfolgen.

Nierenfunktion (GFR, ml/min)	Clearance (ml/Kg/min)	Halbwertszeit (min)	Dosisreduktion (%)
Normal ( $\geq 90$ ml/min)	3,4	25	0
60 – 90 ml/min	3,4	22	0
30 – 59 ml/min	2,7	34	20
10 – 29 ml/min	2,8	57	60
dialysepflichtige Patienten	1,0	3,5 Stunden	90

*Tabelle 3: Pharmakokinetische Parameter von Bivalirudin bei Patienten mit normaler und eingeschränkter Nierenfunktion*

### 1.3 Vergleich zu Heparin

Die systemische Antikoagulation mit dem indirekten Thrombinantagonisten Heparin zählt derzeit zur Standardtherapie bei koronaren Interventionen. Dieses Mucopolysaccharid bildet mit dem körpereigenen Antithrombin III (AT III) einen Komplex, der neben anderen Faktoren der plasmatischen Gerinnungskaskade, vor allem den Faktor F Xa und Thrombin (FIIa) inaktiviert (42).

Die Hemmung von Thrombin (FIIa) erfordert hierbei die Bindung von mindestens 18 Saccharidresten des Heparins an Antithrombin. Für die Hemmung des FXa dagegen reichen 5 Sacharidreste. Daher vermitteln niedermolekulare Heparine (NMH), aufgrund der vorwiegend kurzkettigen Moleküle, vermehrt eine FXa-Wirkung, während das unfraktionierte Heparin (UFH) die Faktoren FXa und FIIa gleichwertig hemmt. Niedermolekulare Heparine verursachen im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin seltener eine heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) (42), wirken weniger aktivierend auf die Thrombozyten, aktivieren aber den sog. „tissue factor pathway inhibitor“ (TFPI) und sind deutlich weniger, bis überhaupt nicht, plazentagängig. Ein wesentlicher Vorteil der NMH ist zudem die Möglichkeit der subkutanen Applikation, auch bei therapeutischer Anwendung (1, 4, 18, 42).

Die NMH besitzen allerdings auch gewisse Nachteile. Sie lassen sich nur parenteral applizieren, die Anwendung muss bei therapeutischer Dosierung 2 x/die, gewichtsadaptiert, erfolgen und allergische Reaktionen treten nicht selten auf (42).

Im Hinblick auf die bislang Standardtherapie mit unfraktioniertem Heparin konnte in der STEEPLE-Studie (Safety and Efficiency of Enoxaparin in Percutaneous Coronary Intervention Patients, an International Randomized Evaluation) mit 3528 Patienten gezeigt werden, dass das niedermolekulare Heparin (Enoxaparin) dem unfraktioniertem Heparin überlegen war, was die Rate von Blutungskomplikationen betrifft. Im Schutz vor Thromboembolien war es aber ebenso wirksam (41, 42, 47).

Im Vergleich zu dem direkt wirksamen Thrombinantagonisten Bivalirudin zeigt die Therapie mit Heparin jedoch einige Unterschiede. Da der Wirkmechanismus der Heparine auf der Bindung an AT III beruht, ist für den Heparin-ATIII-Komplex die Bindungsstelle am Thrombin, welches gerinnselgebunden ist, nicht zugänglich. Diese sog. Exosite-2 ist von Fibrin besetzt. So bleibt die prokoagulatorische Wirkung eines Residualthrombus unter der Heparintherapie weitestgehend erhalten. Es wird diskutiert, dass die Unfähigkeit fibringebundenes Thrombin nicht inaktivieren zu können, vermutlich der Grund dafür ist, dass Heparine eine geringe Wirkung bei koronaren Thromben zeigen und daher beispielsweise eine unzureichende Effektivität bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom zeigen. Ein weiterer wichtiger Nachteil, den eine Heparintherapie mit sich bringt, ist die Aktivierung von Thrombozyten.



Heparine binden an den GP-IIb-IIIa-Rezeptor der Thrombozyten und steigern dadurch die Thrombozytenaggregation. Dies ist auch der Grund dafür, weshalb eine Kombinationstherapie der Heparine mit GP-IIb-IIIa-Antagonisten erforderlich ist (41, 42, 47).

Aufgrund unspezifischer Bindungen der Heparine an das Endothel und an Plasmaproteine haben sie eine nicht-lineare, variable Pharmakokinetik und eine daraus resultierende nicht berechenbare Dosis-Wirkungs-Beziehung hinsichtlich des gerinnungshemmenden Effektes.

In der Praxis wird dadurch die Dosierung erschwert und verlangt somit häufige Messungen von Gerinnungsparametern. Kommt es durch den Heparin-PF-4-Komplex zur Antikörperbildung, kann dies eine heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT II) und ein heparininduziertes thrombozytopenisches Thrombose-Syndrom (HITTS) auslösen. Beides sind ernstzunehmende und lebensbedrohliche Komplikationen für die Patienten. Sie werden durch einen Autoantikörper hervorgerufen, dessen Zielantigen ein Komplex aus Plättchenfaktor-4 und Heparin ist. Der sich bildende Antigen-Autoantikörper-Komplex bindet an den IgG-Fc-Rezeptor der Thrombozyten und löst dadurch eine Aktivierung der Thrombozyten aus. Aktivierte Thrombozyten generieren prokoagulatorische Mikropartikel und schütten erneut Thrombozytenproteine (PF-4) aus. PF-4 bindet freies Heparin und neutralisiert seine Wirkung. Außerdem bindet PF-4 auch an das Heparansulfat, das im „fuzzy coat“ der Endothelzellmembran vorkommt. Auch dieser Komplex lagert die Autoantikörper an und aktiviert dabei die Endothelzellen, so dass die Thrombinbildung weiter verstärkt wird.

Beide Prozesse führen gemeinsam zur Thrombozytopenie und zu thrombotischen Ereignissen (41, 42, 47). Tabelle 4 zeigt zusammengefasst die wichtigsten Unterschiede des Bivalirudin zum Heparin.

	Heparin	Bivalirudin
<b>Thrombininhibition</b>	indirekt und unspezifisch über AT III	direkt und spezifisch
<b>Wirkung auf Thrombin</b>	nur gegen freies Thrombin	gegen freies und gerinnselgebundenes Thrombin
<b>Wirkung auf Thrombozyten</b>	aktiviert Plättchen	indirekte Plättchenhemmung
<b>Antikoagulatorische Reaktion</b>	nicht linear	linear
<b>Halbwertszeit</b>	60-150 Minuten (UFH )	25 Minuten
<b>HIT II / HITTS</b>	Gefahr einer Immunreaktion auf Heparin durch PF-4	keine Kreuzreaktion mit Antikörpern

Tabelle 4: Vergleich Heparin mit Bivalirudin

## 1.4 Klinische Studien mit Bivalirudin im Rahmen der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA)

### 1.4.1 BAT-Studie

In der BAT-Studie wurde Bivalirudin im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin bei 4312 Patienten im Rahmen einer PTCA, bei instabiler Angina oder Postinfarktangina, getestet. Ziel war die Bewertung von Wirksamkeit und Sicherheit, als alternative antithrombotische Therapie. Die Patienten wurden randomisiert und erhielten entweder unfraktioniertes Heparin oder Bivalirudin (9).

Der kombinierte primäre Endpunkt (Tod, Myokardinfarkt, eilige Revaskularisation während der Krankenhausphase) war in beiden Gruppen vergleichbar (12,2 % UFH vs. 11,4 % Bivalirudin). Allerdings fand sich eine signifikante Reduktion schwerer Blutungskomplikationen in der Bivalirudin-Gruppe (9,8 % vs. 3,8 %;  $p < 0,001$ ). Durch spätere Re-Analyse der Patientendaten nach der „Intention-to-treat-Methode“ und modifiziertem primären Endpunkt (Tod, Myokardinfarkt, eilige Revaskularisation bis 7.Tag) konnte zusätzlich zu der Reduktion schwerer Blutungskomplikationen nun auch ein signifikanter Vorteil im Hinblick auf den primären Endpunkt erzielt werden (7,9 % vs. 6,2 %;  $p = 0,04$ ) (9).

Die Ergebnisse dieser Studie waren somit eine um 22% geringere Häufigkeit von Tod , Myokardinfarkt und erneuter Revaskularisation, und eine 62% geringere Häufigkeit von größeren Blutungskomplikationen (9) (siehe Abb. 5).

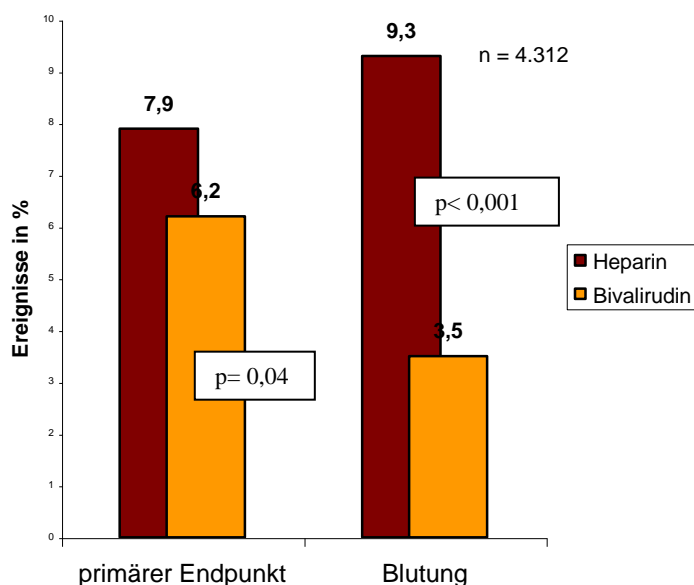


Abbildung 5: BAT-Studie (Bivalirudin Angioplasty Trial)- Ergebnisse

### 1.4.2

### CACHET-Studie

In der CACHET- Studie (Comparison of Abciximab Complications with Hirulog Ischemia Events Trial) wurden 286 Patienten, die eine elektive PTCA erhielten, untersucht (36).

Ziel dieser Studie war der Vergleich zwischen der Kombination von Heparin mit GP IIb/IIIa-Antagonisten und Bivalirudin, hinsichtlich einer Verbesserung des Behandlungsergebnisses, im Verlauf der Intervention. Die Patienten wurden randomisiert und erhielten entweder Heparin in Kombination mit dem GP IIb/IIIa-Inhibitor Abciximab, oder Bivalirudin (bedarfsbezogen in Kombination mit Abciximab).

Bivalirudin bewirkte eine signifikante Reduktion bezogen auf die Ergebnisse des kombinierten Endpunkts aus Tod, Myokardinfarkt, erneuter Revaskularisation (7,8 % vs. 2,8 %) oder größeren Blutungen (6,3 % vs. 1,4 %) nach 7 Tagen (36, 53) (siehe Abb. 6).

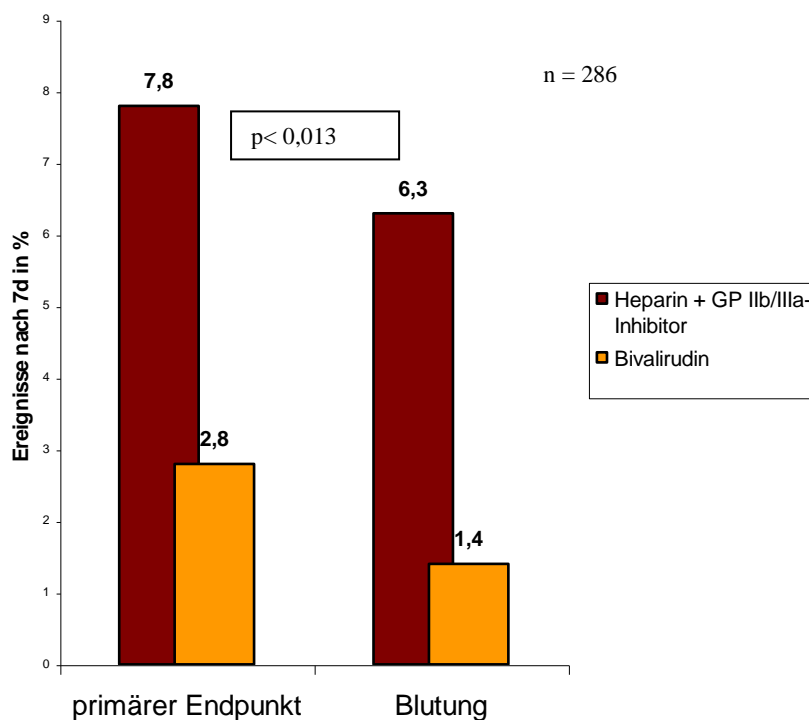


Abbildung 6: CACHET-Studie (Comparison of Abciximab Complications with Hirulog Ischemia Events Trial)- Ergebnisse

### 1.4.3 REPLACE-1-Studie

Bei der REPLACE-1-Studie (Randomized Evaluation of PCI Linking Angiomax to Reduced Clinical Events) handelt es sich um eine Pilotstudie, bei der 1.056 Patienten mit dringlicher oder elektiver PTCA, im Hinblick auf die Wirksamkeit von Bivalirudin im Vergleich zu Heparin, während koronarer Interventionen, untersucht wurden. Bereits vor Randomisierung entschied sich der Interventionist für oder gegen die Verwendung eines zusätzlichen GP IIb/IIIa-Inhibitors.

Die Ergebnisse zeigten die Überlegenheit von Bivalirudin hinsichtlich des Auftretens des kombinierten Endpunktes (Tod, Myokardinfarkt, eilige Revaskularisierung) innerhalb der ersten 48h nach Randomisierung (6,9 % vs. 5,6 %;  $p = 0,4$ ) sowie vor allem eine Reduktion des Auftretens von Blutungskomplikationen (2,7 % vs. 2,1 %;  $p = 0,52$ ) (34). Während die protektive Effektivität von Bivalirudin in Bezug auf den Endpunkt unabhängig von der Verwendung eines GP IIb/IIIa-Inhibitors nachzuweisen war, zeigte sich bei Betrachtung der Blutungskomplikationen der Vorteil für Bivalirudin nur dann, wenn kein GP IIb/IIIa-Inhibitor eingesetzt wurde (34) (siehe Abb. 7).

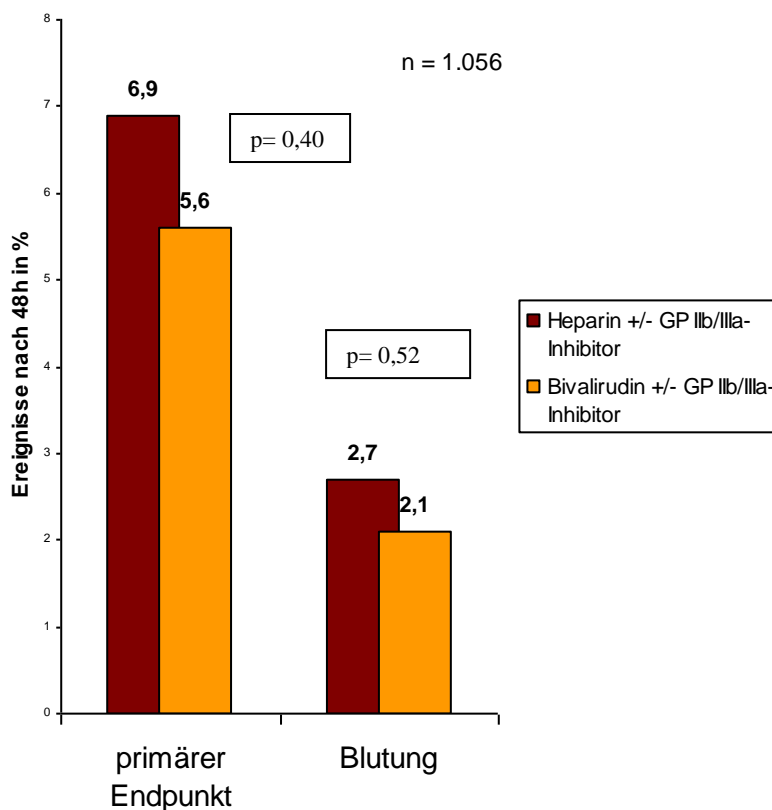


Abbildung 7: REPLACE-1-Studie (Randomized Evaluation of PCI Linking Angiomax to Reduced Clinical Events)- Ergebnisse

#### 1.4.4 REPLACE-2-Studie

Bei der REPLACE-2-Studie handelt es sich um eine große, kontrollierte, doppelblinde Multicenter-Studie, in der 6.010 Patienten mit dringlicher oder elektiver PTCA eingeschlossen wurden. Es sollte gezeigt werden, dass Bivalirudin die Anzahl ischämischer Ereignisse, Komplikationen und Blutungskomplikationen im Vergleich zu Heparin in Kombination mit GP IIb/IIIa-Antagonisten reduzieren kann. Die Patienten erhielten randomisiert und doppelblind entweder unfractioniertes Heparin (65 U/Kg als initialer Bolus) und zusätzlich einen GP IIb/IIIa-Antagonisten oder Bivalirudin (0,75 mg/Kg als Bolus gefolgt von einer Dauerinfusion von 1,75 mg/Kg/h während dem Zeitraum der Intervention). Einen GP IIb/IIIa-Antagonisten erhielt die Bivalirudin-Gruppe nur im Falle einer ischämischen Komplikation (bei 7,2 % der Patienten notwendig). Als Basisithherapie erhielten alle Patienten Azetylsalicylsäure und Clopidogrel (17, 33, 35, 40, 49, 50, 60). Der primäre Endpunkt setzte sich auch hier aus folgenden 4 Ereignissen zusammen: Tod, Myokardinfarkt, eilige Revaskularisation und größere Blutungen. Die Ergebnisse dieser Studie waren, dass Bivalirudin sich in der Behandlung mit Heparin + GP IIb/IIIa-Antagonisten hinsichtlich ischämischer Ereignisse als mindestens gleichwertig, bei signifikant reduzierter Häufigkeit größerer Blutungen, erwies. In der Heparin-GP IIb/IIIa-Antagonisten Gruppe trat der 4-fach Endpunkt bis zum Tag 30 im Vergleich zur Bivalirudin-Gruppe häufiger auf. (10,0 % vs. 9,2 %). Signifikant seltener kam es ebenfalls zu größeren Blutungen in der Bivairudingruppe (Reduktion um 41,5 %,  $p < 0,001$ ). Auch kleinere Blutungen, der Transfusionsbedarf und Thrombozytopenien traten in der Bivalirudin-Gruppe signifikant seltener auf (17, 33, 35, 40, 49, 50, 60) (siehe Abb. 8).

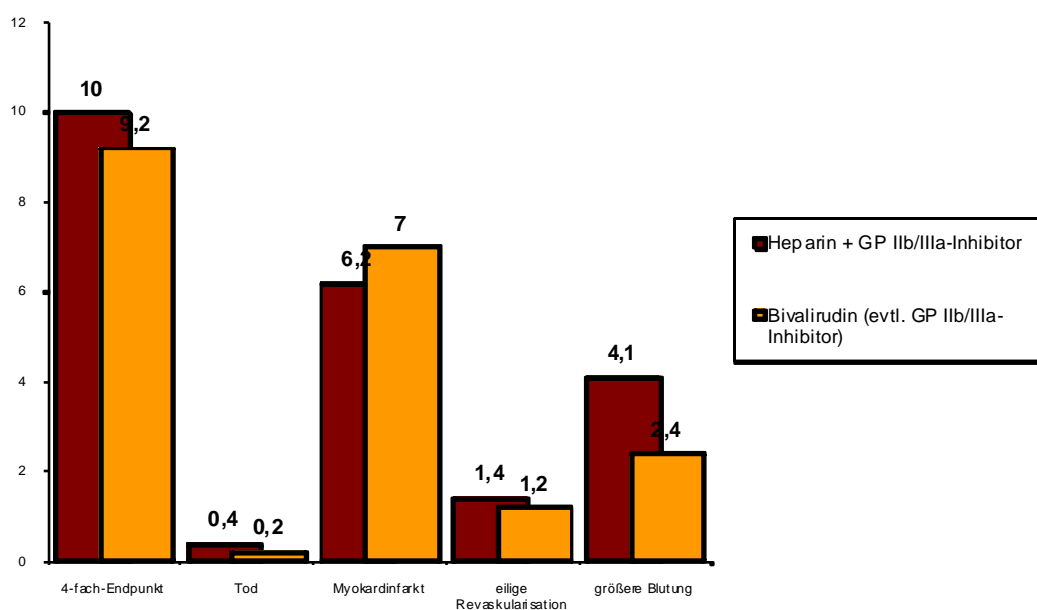


Abbildung 8: REPLACE-2-Studie- Ergebnisse

Die Langzeitbeobachtungen der Patienten über 6 und 12 Monate zeigte zudem einen Trend zu einer niedrigeren Mortalität in der Bivalirudin-Gruppe (1,35 % vs. 0,95 %) (33, 35, 40).

Der Vorteil bei der Mortalität wurde nach 6 und nach 12 Monaten mit zunehmendem Unterschied zugunsten der Bivalirudin-Gruppe aufrechterhalten. Die Sterblichkeitsrate in der Bivalirudin-Gruppe lag bei 1,9% im Vergleich zur Heparin + GP IIb/IIIa-Antagonisten-Gruppe mit 2,5% (33, 35, 40).

#### **1.4.5 ACUITY-Studie**

Bei der ACUITY-Studie handelt es sich um eine prospektive Studie bei Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom, welche eine PTCA erhielten und entweder Heparin in Kombination mit GP IIb/IIIa-Inhibitoren, Bivalirudin in Kombination mit GP IIb/IIIa-Inhibitoren oder nur Bivalirudin alleine erhielten. Untersucht wurden Mittel- bis Hochrisikopatienten mit instabiler Angina pectoris sowie Patienten mit NSTEMI. Insgesamt wurden 13.819 Patienten eingeschlossen. Neben der Gesamtmortalität und dem Auftreten eines Myokardinfarktes zählten die ungeplanten, ischämiebedingten Revaskularisationen als ischämische Endpunkte. Die schweren Blutungen wurden als schwere, nicht bypassoperationswürdige Blutungskomplikationen definiert oder Re-Operationen aufgrund einer Blutungskomplikation. Beim Vergleich der Wirksamkeit des Bivalirudin plus GP IIb/IIIa-Inhibitor zu Heparin plus GP IIb/IIIa-Inhibitor zeigte sich keinerlei signifikanter Unterschied bezüglich der ischämischen Endpunkte oder schwerer Blutungskomplikationen. (11,7% vs. 11,8%) (19, 22, 29, 32, 37, 56, 62, 63).

Wenn die Gruppe mit Heparin plus GP IIb/IIIa-Inhibitor mit der alleinigen Therapie mit Bivalirudin verglichen wird, so zeigt sich eine signifikant geringere Anzahl an klinischen Endpunkten (11,7% vs. 10,1%), wobei vor allem die signifikante Abnahme der schweren Blutungskomplikationen von 5,7% in der Heparin plus GP IIb/IIIa-Inhibitorgruppe auf 3,0% in der Bivalirudin-Gruppe zu diesem Ergebnis beigetragen hat (5,7% vs. 3,0%;  $p < 0,0001$ ). Beim Vergleich aller drei Therapiegruppen zeigt sich somit vor allem im Hinblick auf die Abnahme der Blutungskomplikationen der Vorteil des Bivalirudin, wenn kein GP IIb/IIIa-Inhibitor in der Therapie enthalten war (5,7% vs. 5,3% vs. 3,0%) (19, 22, 29, 32, 37, 56, 62, 63).

Die Anzahl der ischämischen Endpunkte in den drei Therapiegruppen war nicht signifikant voneinander verschieden. Schlussfolgernd kann man als Ergebnis dieser Studie sagen, dass die Therapie mit Bivalirudin gegenüber einer Therapie mit Heparin plus GP IIb/IIIa-Inhibitor oder Bivalirudin plus GP IIb/IIIa-Inhibitor hinsichtlich der ischämischen Endpunkte vergleichbar effektiv ist, die Therapie mit Bivalirudin alleine jedoch mit signifikant weniger Blutungskomplikationen assoziiert ist (19, 22, 29, 32, 37, 56, 62, 63). (siehe Abb. 9)

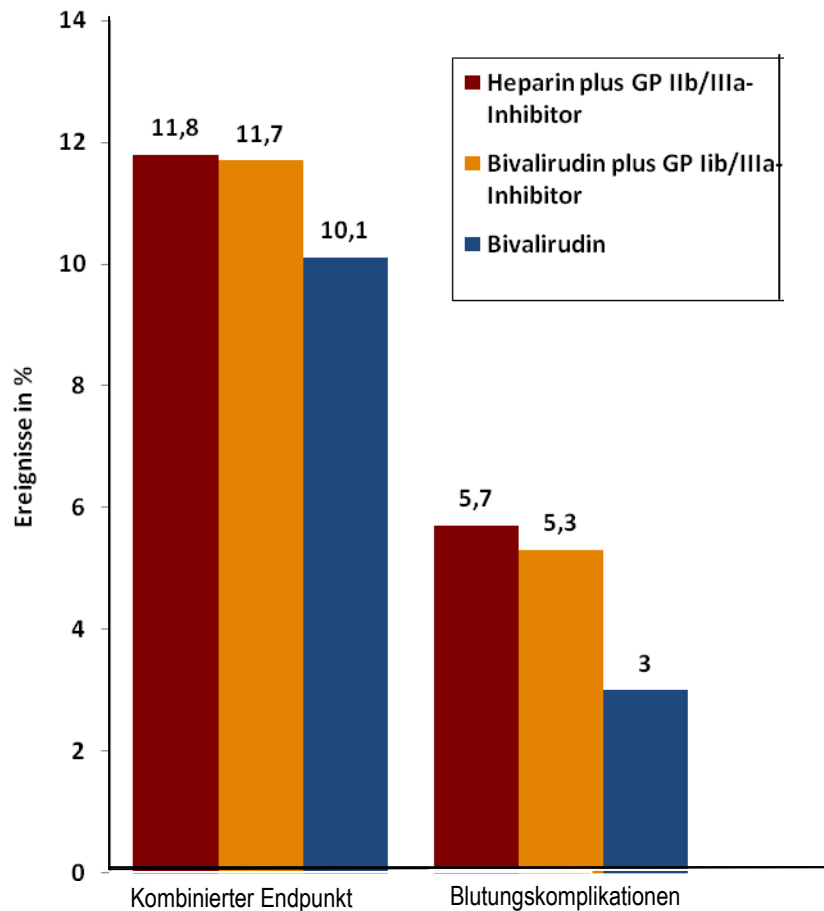


Abbildung 9: ACUITY-Studie- Ergebnisse

## 1.5 Laborchemisches Monitoring von Thrombinhemmern

Das klinische Patientenmanagement beim akuten Koronarsyndrom (ACS) kann durch verschiedene Veränderungen und Einflussfaktoren im Hämostasesystem kompliziert werden. Hierzu zählen auch pharmakokinetische und pharmakodynamische Parameter der eingesetzten Antikoagulantien. Verschiedene therapeutische Optionen zur Beeinflussung der Gerinnungssituation stehen hierbei zur Verfügung (55). Eine Reihe von Point-of-Care (POC)-Verfahren haben daher ihren Weg in den klinischen Alltag gefunden. Das Spektrum der verfügbaren Methoden erstreckt sich von einfachen Methoden zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung über Thrombozytenfunktionsmessungen, bis hin zu komplexeren, viskoelastischen Analyseverfahren (54, 55).

Die Abbildung 10 zeigt einen schematischen Überblick über die verschiedenen Monitoringverfahren in Bezug auf Pharmakokinetik/-dynamik von Gerinnungshemmstoffen, Spezifität der Testverfahren und den Zusammenhang zu möglichen Einflussfaktoren (54, 55).

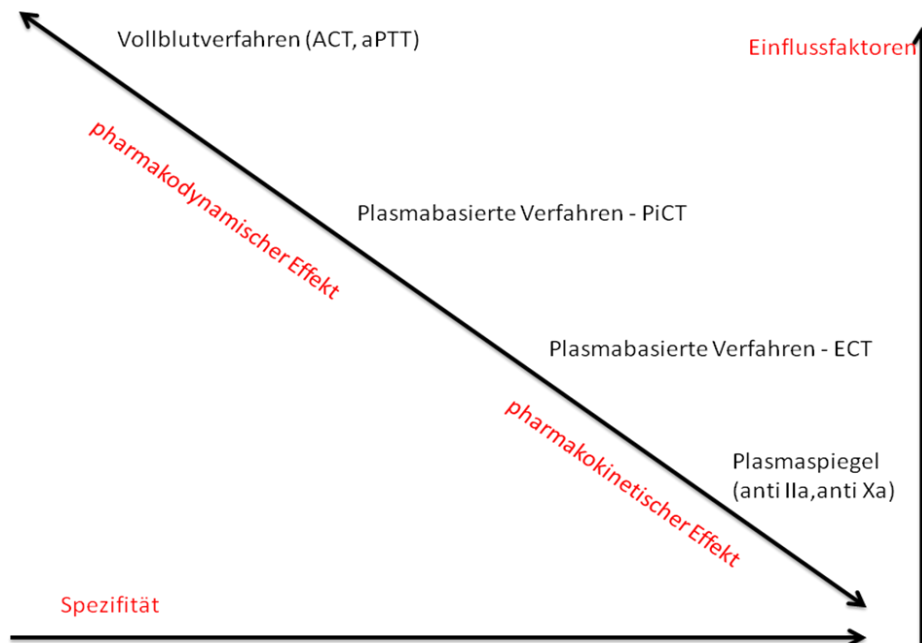


Abbildung 10: Überblick über die verschiedenen Monitoringverfahren in Bezug auf Pharmakokinetik/-dynamik, Spezifität der Testverfahren und den Zusammenhang zu möglichen Einflussfaktoren.

Zu den bisher verwendeten laborchemischen Monitoringverfahren für direkte Thrombinhemmer zählen insbesondere die Ecarin-Clotting-Time (ECT), die Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) sowie Modifikationen der aktivierten Gerinnungszeit (ACT) (4, 14, 20, 27, 28, 30, 44, 64, 65). Es stellt sich die Frage, ob diese Tests eine ausreichende Sensitivität und Spezifität besitzen, um direkte Thrombinhemmer, wie Bivalirudin, im therapeutischen Bereich, zu überwachen. Ein Nachteil der globalen Monitoringverfahren ist, dass sie bei gleicher Dosierung große, interindividuelle Schwankungen aufweisen.

Ein systematischer Vergleich verschiedener Verfahren wurde bislang für den direkten Thrombinhemmer Bivalirudin nicht durchgeführt.

Dieser verursacht einen linearen, dosisabhängigen Anstieg in verschiedenen Laborparametern wie beispielsweise der aktivierten Gerinnungszeit (ACT), aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), Prothrombin- und Thrombinzeit (4, 14, 20, 27, 28, 30, 44, 64, 65).



Im Zuge von Koronarinterventionen, bei denen rasche POC-Analysen notwendig sind, wird als Monitoringverfahren die aktivierte Gerinnungszeit (ACT) durchgeführt. Bei therapeutischer Dosierung werden ACT-Werte von 270-310 Sekunden angestrebt. Für dieses POC-Verfahren sind jedoch Limitationen bekannt. Die Präzision ist nicht allzu gut und die Sensitivität liegt im unteren Bereich, sodass diese Meßmethode nur eingeschränkt zum Patientenmonitoring, insbesondere für das Monitoring des Hirudins und anderer direkter Thrombininhibitoren geeignet ist (14, 28, 44, 64).

Das laborchemische Monitoring mit der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) ist hingegen gekennzeichnet durch eine geringe Linearität und Reproduzierbarkeit (28).

Zuletzt hat sich der direkte Weg der Prothrombinaktivierung zum Monitoring von direkten Thrombinhemmern durchgesetzt. Zu ihnen zählen die Ecarin-Clotting-Time (ECT) und die Prothrombinase-induzierte-Gerinnungszeit (PiCT).

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die ECT, im Vergleich zur ACT, aPTT und PiCT, das sensitivste Monitoringverfahren im therapeutischen Bereich darstellt.

Das Ergebnis wird durch eine gleichzeitige Heparintherapie nicht beeinflusst und es weist eine lineare Dosis-Wirkung-Beziehung zum Hirudin auf (64).

Die PiCT hingegen zeigt eine gute Dosis-Wirkungsbeziehung der Gerinnungswerte zwischen direkten Thrombinhemmern und unfractioniertem Heparin. Somit stellt die PiCT das laborchemische Monitoringverfahren dar, um sowohl Patienten mit UFH, als auch mit direkten Thrombinhemmern während Koronarinterventionen zu überwachen.

Das Monitoringverfahren der ersten Wahl für Heparine ist die aPTT. Ziel ist hierbei eine Verlängerung der aPTT um das 1,5 – 2,5 – fache des Ausgangswertes (4, 14, 20, 27, 28, 30, 44, 64, 65).

## 1.6 Zielsetzung der Arbeit

Thrombin spielt eine zentrale Rolle im Gerinnungsprozess und somit in der Pathogenese von arteriellen Thromben. Mit der Entwicklung von direkten Thrombininhibitoren kann dieses Schlüsselenzym selektiv und effizient gehemmt werden. In zwei großen multizentrischen, randomisierten, doppelblinden und placebokontrollierten Studien führte das seit September 2004 in Deutschland zugelassene Hirudin-Analogon, Bivalirudin (Angiox®, Nycomed), ein direkter, bivalenter und reversibler Thrombininhibitor, zu einer hochsignifikanten Reduktion schwerer Blutungskomplikationen. Der bessere Schutz vor ischämischen Ereignissen bei gleichzeitig reduziertem Blutungsrisiko spricht somit für den Einsatz von Bivalirudin im Rahmen von Koronarinterventionen.

Es wird behauptet dass bei Interventionen mit Bivalirudin ein Monitoring von Gerinnungszeiten, bspw. der ACT (activated clotting time), aufgrund der schnellen Elimination und der damit verbundenen geringen Halbwertszeit, nicht notwendig seien. Systematische Datenerhebung und Evaluation wurden bis jetzt jedoch noch nicht durchgeführt.

Im folgenden wird die Anwendung von Gerinnungsglobalmethoden und spezifischen Testverfahren zum Monitoring der Gabe von Bivalirudin untersucht. Zielsetzung dieser Arbeit waren zum einen das laborchemische Monitoring des Bivalirudin während Koronarinterventionen, besonders im Hinblick auf interindividuelle Unterschiede. Hierbei sollten besonders die unterschiedlichen laborchemischen Testmethoden untereinander verglichen und korreliert werden. Zum Anderen sollte evaluiert werden ob durch Bivalirudin gegebenenfalls ein signifikanter direkter oder indirekter additiver Effekt auf die Thrombozyten vorhanden und meßbar ist.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Instrumente

Hemochron 401 Blood Coagulation System (International Technidyne Corp., Edison, NY, USA)

<b>activated clotting time (ACT)</b> – „point of care“-Bestimmung während der Intervention
--

Der Monitoring-Test wird mit frischem Vollblut am Patientenbett durchgeführt und wird allgemein zur Überwachung der Heparintherapie während kardiopulmonaler Bypassoperationen, perkutaner transluminaler Koronarangioplastie (PTCA), interventioneller Radiologie, extrakorporaler Membranoxygenierung (ECMO), Hämofiltration, Hämodialyse oder Intensivtherapie verwendet (15).

Nach Zugabe von frischem Vollblut in ein Teströhrchen, welches einen Aktivator enthält (Celite®, Glaspartikel oder Kaolin), wird das Teströhrchen in das Gerät eingelegt. Das mechanische Feststellen eines Fibrinpfropfs in der Blutprobe beendet den Test automatisch und veranlasst den digitalen Timer, die Koagulationszeit in Sekunden anzuzeigen.

Kugelkoagulometer, KC 10 A micro (H Amelung GMBH, Germany))

<b>aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)</b> – koagulometrische Methode
--

Der Kugelkoagulometer, KC 10, erlaubt eine halbautomatisierte Messtechnik, bei der bis zu 10 Proben gleichzeitig gemessen werden können. Der Gerinnungsansatz befindet sich in einem schräg gelagerten Röhrchen, das sich langsam um die Längsachse dreht. Eine kleine Metallkugel läuft vor dem Eintritt der Gerinnung durch ihre Schwerkraft exakt an vorgegebener Stelle. Beim Einsetzen der Gerinnung wird die Kugel durch die sich bildenden Fibrinfasern mitgenommen. Ihre Lageänderung löst in einem magnetischen Sensor einen Impuls aus, der automatisch registriert wird. Die Messzeiten werden anschließend an einen angeschlossenen Drucker übertragen und ausgedruckt (aPTT in Sekunden).

<b>Bestimmung der Verschlusszeit (VZ)</b> – Thrombozytenfunktionsmessung
--

Das PFA-100 ist ein Analysensystem, in dem der Prozess der Thrombozytenadhäsion und –aggregation, der nach einer Gefäßverletzung einsetzt, *in vitro* simuliert wird. Es kann somit ererbte, erworbene oder durch Thrombozytenaggregationshemmer induzierte Thrombozytenfunktionsstörungen im Citrat-Vollblut erkennen.

Durch einen definierten Sog strömt das antikoagulierte Blut durch präperierte Messzellen.

Die Zeit vom Testbeginn bis zum Verschluss der Membranöffnung wird als Verschlusszeit (VZ) angegeben. Sie ist der Indikator für die Adhäsions- bzw. Aggregationfähigkeit der Thrombozyten.

ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry

<b>INTEM</b>	-	Gerinnungsaktivierung über die Kontaktphase
Erfassung von:	-	Faktoren I,II,V,VIII,IX,X,XI,XII
	-	Thrombozyten
	-	Fibrinolyse
Parameter:		<b>CT (clotting time)</b> - Gerinnungszeit
		<b>CFT (clotting formation time)</b> - Gerinnselbildungszeit
		<b>MCF (max. clot firmness)</b> - Gerinnselfestigkeit

Im ROTEM-System wird die Probe in eine Küvette pipettiert. Ein zylindrischer Stempel taucht ein. Zwischen Stempel und Küvette verbleibt ein Spalt von 1mm, der durch das Blut, bzw. das Gerinnsel, überbrückt wird. Der Stempel wird mittels einer Feder abwechselnd nach rechts und links gedreht. Solange das Blut flüssig ist, ist diese Bewegung ungehindert. Sobald das Blut gerinnt, hemmt das Gerinnsel die Bewegung des Stempels und zwar zunehmend mit steigender Gerinnselfestigkeit. Die Drehung des Stempels ist somit umgekehrt proportional zur Gerinnselfestigkeit. Sie wird optisch aufgezeichnet. Ein an das Messgerät angeschlossener Computer berechnet die ROTEM-Kurve sowie deren Parameter (12, 24).

### Dade-Behring Blood Coagulation System (Deerfield, Illinois)

Mit dem Dade-Behring Blood Coagulation System wurden folgende Analysen durchgeführt:

<b>Ecarin clotting time (ECT)</b>	--	koagulometrische Methode
<b>Prothrombinase induced clotting time (PiCT)</b>	--	koagulometrische Methode

Das BCS®-System ist ein flexibles Hochgeschwindigkeits-Analysengerät für spezifische, chromogene und immunologische Koagulationstests. Das Gerät reduziert durch automatische Kalibrierung die Anzahl manueller Arbeitsschritte.

Das automatische Lesen von Barcodes gewährleistet eine positive Identifikation von Proben und Reagenzien und bietet chargenspezifische Reagensinformationen. Das BCS®-System eignet sich für mehrere Röhrchengrößen und unterschiedliche Chargen des gleichen Reagens. Mit Hilfe des BCS®-Systems konnten weitere Gerinnungsspezifische Untersuchungen, wie die ECT und die PiCT durchgeführt werden.

### Blutabnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Sarstedt AG, Nümbrecht)

Um eine vorzeitige Gerinnungsaktivierung der Vollblutproben durch Oberflächenkontakt zu vermeiden, wurden mit gepufferter Natriumzitat-Lösung (0,11 M) vorgefüllte Abnahmeröhrchen der Firma Sarstedt verwendet (1 Teil Natriumzitat + 9 Teile Blut). Durch Zugabe des Calcium-Komplexbildners wurden die Proben temporär, reversibel antikoaguliert. Transport, Lagerung und Zentrifugation der Probe wurden auf diese Weise möglich.

### Zentrifuge ROTANTA 46 R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen)

Die Gerinnungsanalysen wurden mit plättchenarmem Plasma durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Vollblutproben nach der Abnahme unverzüglich für 20 Minuten bei 4000 x g<sup>1</sup> zentrifugiert.

### Kolbenhubpipetten der Firma Eppendorf (Hamburg)

Für das Herstellen von Lösungen und Verdünnungen wurden Kolbenhubpipetten der Firma Eppendorf, Hamburg, verwendet.

## 2.2 Reagenzien und Testdurchführung

### 2.2.1 activated clotting time (ACT)

Die ACT wird allgemein zur Überwachung der Antikoagulation bei bestimmten diagnostischen und therapeutischen Untersuchungen verwendet. Die Tests werden direkt nach Blutabnahme im Vollblut durchgeführt.

- Indikationen:*
- kardiopulmonale Bypassoperationen
  - perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA)
  - interventionelle Radiologie
  - extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO)
  - Hämofiltration, Hämodialyse und Intensivtherapie

*Testdurchführung:*

Die Testdurchführung erfolgte am Hemochron 401 Blood Coagulation System:

UNTERSUCHUNGSSCHEMA	
Patientenvollblut „point of care“	2,0 ml
MESSUNG DER KOAGULATIONSZEIT IN SEKUNDEN	

### 2.2.2 aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die aPTT ist ein schneller Suchtest für Defekte des endogenen Gerinnungssystems und der gemeinsamen Endstrecke der Gerinnung (FXa, V, II, I).

- Indikationen:*
- Verdacht auf hämorrhagische Diathese (Hämophilie, vWD)
  - Überwachung und Steuerung einer Heparintherapie
  - Überwachung der Substitutionstherapie bei Hämophilie A und B
  - präoperatives Screeningverfahren eines Blutungsrisikos
  - Nachweis von Lupus-Antikoagulans und Hemmkörpern

Die Aktivierung erfolgt durch ein partielles Thromboplastin. Während Gewebethromboplastin, wie es im Rahmen der Bestimmung der Thromboplastinzeit verwendet wird, aus Phospholipiden und einem Proteinanteil (Tissue Faktor) besteht, enthält partielles Thromboplastin lediglich den Phospholipidanteil. Um das endogene System zu aktivieren, wird darüber hinaus ein Oberflächenaktivator (z.B. Silica, Kaolin, Ellagsäure) hinzugefügt (aktivierte PTT).

Die Begriffe PTT und aPTT werden heute synonym gebraucht. Es kommt zur Kontaktaktivierung der Faktoren XII und XI. Durch Zugabe von Calcium-Ionen wird der Gerinnungsvorgang gestartet.

*APTT-Reagenz (HemosIL™ APTT-SP (liquid), Instrumentation Laboratory Comp., Lexington)*

- Kolloidale Silica-Dispersion (Oberflächenaktivator)
- synthetische Phospholipiden
- Puffer
- Konservierungsmittel
- Calciumchlorid (0,025 Mol/L)

#### *Vorbereitung der Reagenzien:*

- APTT reagent wurde vor Gebrauch ca. 15 Sekunden kräftig aufgeschüttelt und bei Raumtemperatur verwendet.
- Die Calciumchlorid-Lösung wurde auf 37°C vorgewärmt.
- Das Blutplasma der Patienteproben wurde nach Zentrifugation in Eppendorf-Küvetten abpipettiert.

#### *Testdurchführung:*

Die Testdurchführung erfolgte am Kugelkoagulometer KC 10 A micro:

PIPETTIERSCHEMA	
APTT reagent	50 µl
Calciumchlorid-Lsg.	50 µl
INKUBATION	
Patientenplasma	50 µl
MESSUNG DER GERINNUNGSZEIT IN SEKUNDEN	



### 2.2.3 PFA-100 ADP/Kollagen- Thrombozytenfunktionsmessung

Das PFA-100 System umfasst den Analyzer PFA-100 und 2 Messzellen, deren Membran entweder mit Kollagen/ADP (spezifisch) oder mit Kollagen/Epinephrin (sensitiv) beschichtet ist.

- Indikationen:*
- präoperatives Screening auf von-Willebrand-Syndrom
  - Monitoring der Therapieeffizienz bei Medikamenten, die die Thrombozyten beeinflussen (ASS, Clopidogrel)
  - Unterstützung der Diagnose angeborener und erworbener Thrombozytenfunktionsstörungen

Die antikoagulierte Vollblutprobe wird in die Meßzelle pipettiert. Aus dem Probenreservoir wird das Blut durch die Kapillare in eine Öffnung aspiriert, wo die Thrombozyten hohen Scherkräften ausgesetzt sind. Die Anlagerung der Thrombozyten am Kollagen gilt als Auslöser der Thrombozytenaktivierung. Durch Kontakt mit den Agonisten ADP oder Epinephrin kommt es zur Freisetzung der Granulainhaltsstoffe. Anschließend erfolgt die Aggregatbildung durch Adhäsion der Thrombozyten. Durch diesen Thrombozytenpfropf wird der Blutfluss reduziert, bis er schließlich ganz zum Stillstand kommt. Das Gerät ermittelt die Zeit von Beginn des Tests bis zum völligen Membranverschluss. Diese Zeit wird als Verschlusszeit (VT) angegeben. Und ist Indikator für die Thrombozytenfunktion im untersuchten Vollblut

*PFA Meßzelle Kollagen/Epinephrin (Dade Behring, Marburg)*

- Kollagen Typ I (Pferd), 2 µg
- Epinephrin-Bitartrat, 10 µg

*PFA Meßzelle Kollagen/ADP (Dade Behring, Marburg)*

- Kollagen Typ I (Pferd), 2 µg
- Adenosin-5-Diphosphat, 50 µg

*Vorbereitung der Reagenzien:*

- Die Meßzellen wurden vor Gebrauch ca. 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert

*Testdurchführung:*

Die Testdurchführung erfolgte am Platelet Function Analyzer, PFA-100:

PIPETTIERSCHEMA	
gepuffertes Patientenvollblut	800 µl
MESSUNG DER VERSCHLUSSZEIT IN SEKUNDEN	

#### **2.2.4 ROTEM / in-TEM- Thromboelastometry (Pentapharm, Munich, Germany)**

Die in-TEM-Untersuchung dient der Beurteilung des endogenen Gerinnungssystems, sowie dessen Wechselwirkung mit Thrombozyten und Fibrinogen im Citrat-Vollblut.

- Indikationen:*
- Verdacht auf hämorrhagische Diathese
  - Überwachung und Steuerung einer Antikoagulantientherapie
  - Intraoperatives Blutungsmanagement
  - Steuerung von Blutprodukten

Bei der thrombelastometrischen Messung mit ROTEM, wird nach Zugabe von star-TEM (Rekalzifizierung der Probe) und in-TEM (Aktivierung der Kontaktphase durch Ellagsäure) der Gerinnungsprozess eingeleitet und vom ROTEM-Analyzer kontinuierlich aufgezeichnet. Neben der Bestimmung der Gerinnungszeit kann auch das Ausmaß der Gerinnselstabilität untersucht werden.

*ROTEM-star-TEM (Pentapharm GmbH, München)*

- Calciumchlorid in HEPES-Puffer (ph=7.4), 0,2 M
- Na-Azid, 0,1%

*ROTEM-in-TEM (Pentapharm GmbH, München)*

- Partielles Thromboplastin-Phospholipid aus Kaninchen (Chloroform-Extrakt)
- Ellagsäure
- Puffer
- Konservierungsmittel

*Vorbereitung der Reagenzien:*

- Die Reagenzien wurden vor Gebrauch bei Raumtemperatur für ca. 15 min inkubiert und vorsichtig geschüttelt
- Die Meßküvette wurde in den vorgewärmten Küvettenhalter eingesetzt und in Position gebracht

*Testdurchführung:*

Die Testdurchführung erfolgte am ROTEM-Thromboelastographen:

PIPETTIERSCHEMA	
star-TEM-Reagenz	20 µl
in-TEM-Reagenz	20 µl
Patientenplasma	300 µl
MESSUNG VON CT, CFT, MCF	

### 2.2.5 Ecarin clotting time (ECT)

Die Ecarin Clotting Time (ECT) ist eine präzise Bestimmungsmethode zur Überprüfung der Wirkung von direkten Thrombininhibitoren, wie Bivalirudin.

*Indikationen:* Monitoring einer Therapie mit direkten Thrombininhibitoren, wie zum Beispiel Hirudin, Bivalirudin, Argatroban, etc.

Ecarin ist ein Schlangengift (*Echis carinatus*), welches Prothrombin in Meizothrombin umwandelt. Meizothrombin besitzt thrombinähnliche proteolytische Aktivität. In Anwesenheit von direkten Thrombininhibitoren wird Meizothrombin genauso wie Thrombin inaktiviert, so dass eine relevante Thrombinbildung erst nach vollständiger Neutralisation des Thrombinhemmers erfolgt. Die Verlängerung der ECT ist deswegen proportional der Konzentration des Thrombinhemmers.

Die Messgröße ist die Gerinnungszeit und wird in Sekunden angegeben. Abbildung 11 zeigt schematisch das Prinzip der ECT-Bestimmung.

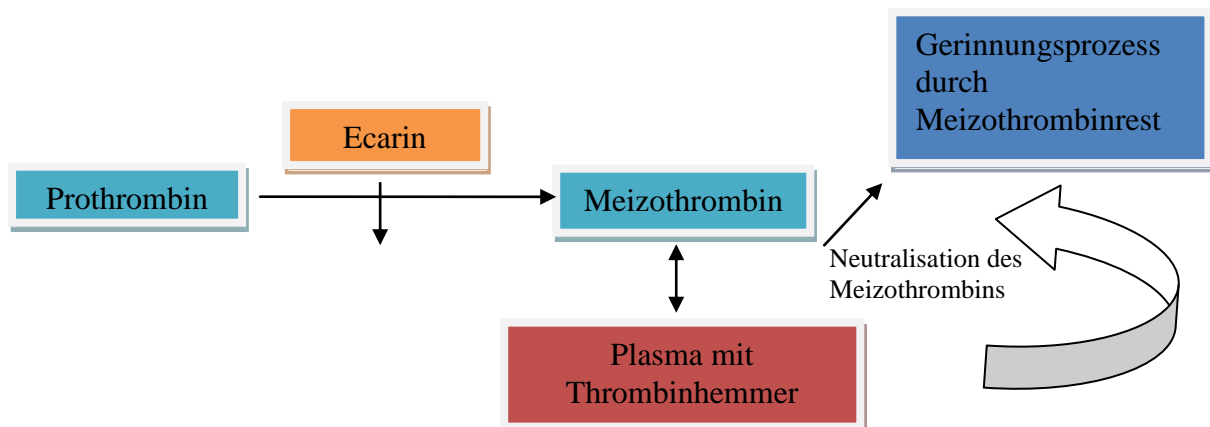


Abbildung 11: Prinzip ecarin clotting time (ECT)

## 2.2.6 Prothrombinase induced clotting time (PiCT)

Die PiCT ist ein Monitoringverfahren, mit dem direkte und indirekte Faktor FX- und Thrombinhemmern bestimmt werden können.

*Indikationen:* Monitoring einer Therapie mit direkten oder indirekten Faktor X – und Thrombininhibitoren.

Durch das Gift der „Russels-Viper“ (RVV) kommt es zur Aktivierung des Faktor V. Diese bewirkt die Bildung des „Prothrombinasekomplexes“ (FV-FX-Calcium-Phospholipid-Komplex), und damit die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin. Nach Neutralisation des entstandenen Thrombins durch die indirekten oder direkten Thrombinhemmer, kann das restliche Thrombin den Gerinnungsprozess auslösen. Die Verlängerung der PiCT ist deswegen proportional der Konzentration des jeweiligen Thrombinhemmers. Die Messgröße ist die Gerinnungszeit und wird in Sekunden angegeben. Abbildung 12 zeigt schematisch das Prinzip der PiCT-Bestimmung.

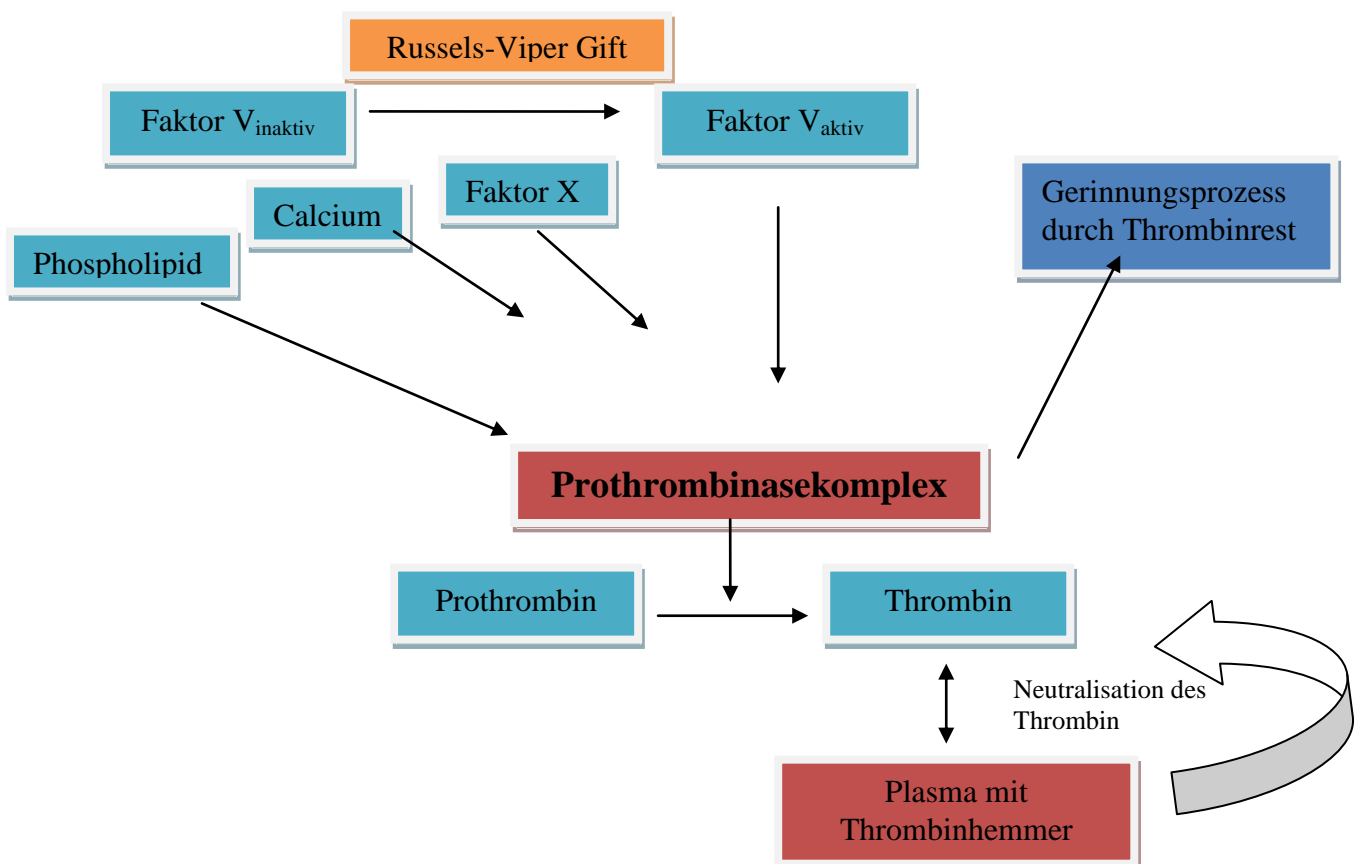


Abbildung 12: Prinzip prothrombinase induced clotting time (PiCT)

## **2.3 Proben**

Das Patientenkollektiv der vorliegenden Versuchsreihe entstammt der Kardiologischen Abteilung am Klinikum der Universität München, Medizinische Klinik Innenstadt. Es handelt sich hierbei um Patienten bei denen die Notwendigkeit einer elektiven perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) gestellt wurde.

Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten erhielten vor der Intervention über den Zeitraum von mindestens 14 Tagen eine antithrombotische Therapie mit ASS 100® und Plavix®. Als periprozedurale, präventive, antithrombotische Therapie wurde den Probanden (n = 40; davon 30 Patienten in der Bivalirudin-Gruppe und 10 Patienten in der Heparin-Gruppe) entweder gewichtsadaptiert unfractioniertes Heparin (UFH) oder Bivalirudin (mit 0,75 mg/Kg als Bolus gefolgt von einer Dauerinfusion von 1,75 mg/Kg/h; REPLACE-2 Dosierungsschema) verabreicht.

Die Blutentnahmen wurden vor, nach 5-, 10-, 15-, 30 Minuten, und am Ende der Herzkatheter-Untersuchung durchgeführt. Nach jeder Blutentnahme wurde mit einem geringen Teil des Vollblutes sofort die ACT-Messung (activated clotting time) als „point of care“ – Monitoring durchgeführt, während der überwiegende Anteil in mit gepufferter Natriumzitat-Lösung (0,11 M) vorgefüllte Abnehmeröhrchen umgefüllt wurde, um eine vorzeitige Gerinnungsaktivierung der Vollblutproben zu vermeiden. Mit diesen Proben wurden dann innerhalb von 150 Minuten nach Entnahme die folgenden Untersuchungen durchgeführt: ACT, aPTT, ROTEM-INTEM und PFA-ADP.

Ein Teil der Proben wurde zentrifugiert und bei -80°C eingefroren um spätere ex-vivo-Untersuchungen (ECT, PiCT, Thrombozytenfunktionstests) durchführen zu können.

## **2.4 Datenanalyse**

Die Datenanalyse erfolgte mit Hilfe der statistischen Programme Microsoft Excel® und Statview®.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Patientencharakterisierung

Tabelle 5 zeigt die Charakteristika der in die Studie eingeschlossenen Patienten. 30 Patienten in der Bivalirudingruppe und 10 Patienten in der HeparinGruppe. Alle Patienten hatten bereits eine Vormedikation mit Acetylsalicylsäure und Clopidogrel.

	n = 40 (Bivalirudin n=30; UFH n=10)
Alter	40-84
Vormedikation mit ASS und Clopidogrel	40
Arterieller Hypertonus	35
Diabetes mellitus	15
Raucher	24
Fettstoffwechselstörung	37
Nierenfunktionseinschränkung (Serumkreatinin-Wert: 1,1 – 1,5 mg/dl)	5

Tabelle 5: Patientencharakterisierung (n=40)

#### 3.2 Laborchemisches Monitoring der Bivalirudinpatienten

##### 3.2.1 “Point of care” – activated clotting time (ACT) - Monitoring

Abbildung 13 zeigt die Mittelwerte und die Standardabweichungen des ACT-Monitorings der Bivalirudingruppe. Abbildung 14 die absoluten Werte aller 30 Patienten. Bei 2 Patienten konnte die Gabe von Bivalirudin innerhalb der ersten 10 Minuten keinen adäquaten Anstieg der ACT bewirken. Nach 10 Minuten jedoch liegen alle Patienten über 250 sec (festgelegtes Minimum). Man erkennt zudem eine sehr starke interindividuelle Streuung vom Zeitpunkt der ersten Messung bis zum Ende der Intervention. Hierbei können insbesondere zwei unterschiedliche Kollektive identifiziert werden. Zum einen eine „High-Responder-Gruppe“, die einen raschen Anstieg der ACT nach Bivalirudinapplikation zeigen und zum anderen eine „Low-Responder-Gruppe“, welche erst nach einer gewissen

Interventionszeit mit der ACT ansteigen und in manchen Einzelfällen diesbezüglich einen zusätzlichen periinterventionellen Bivalirudinbolus benötigt hatten.

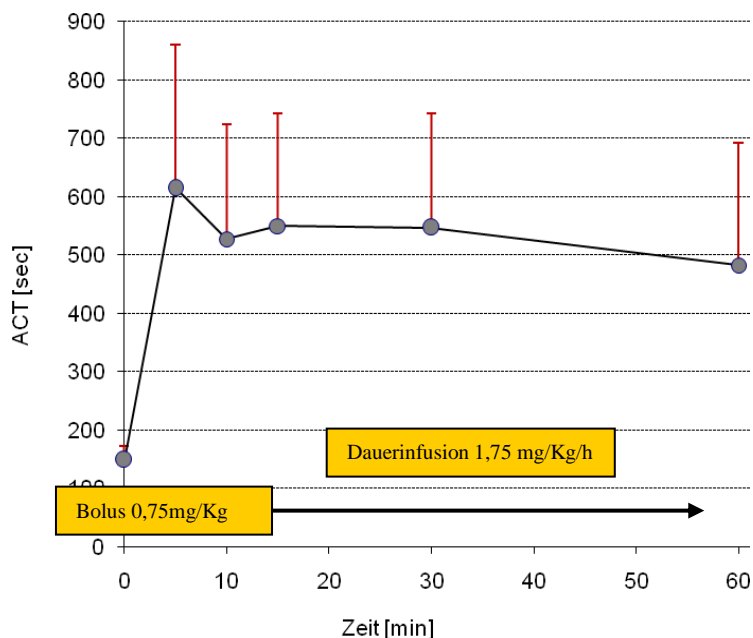


Abbildung 13: ACT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.

Zeitpunkt	vor	5'	10'	15'	30'	Ende
Mittelwert	149	615	528	550	547	483
Standardabweichung	24,2	245,3	195,8	192,9	196,2	209,5

Tabelle 6: ACT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.



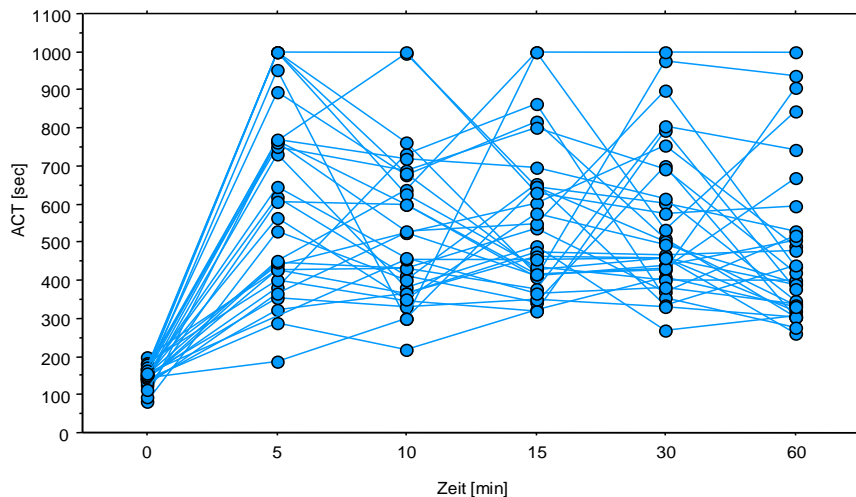


Abbildung 14: ACT-Monitoring der Bivalirudingruppe, absolute Werte aller Patienten zu allen Zeitpunkten

### 3.2.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) - Monitoring

Das aPTT-Monitoring in Abbildung 15 zeigt ähnliche Werte wie die ACT. Auch hier erkennt man eine starke interindividuelle Streuung der Gerinnungszeiten, zu allen Zeitpunkten der Messungen. Mit Ausnahme eines Patienten, der direkt nach der Bolusgabe eine überschüssige Antwort zeigt, liegt der Rest nach etwa 15 Minuten in einem adäquaten therapeutischen Bereich zwischen 100 und 400 Sekunden.

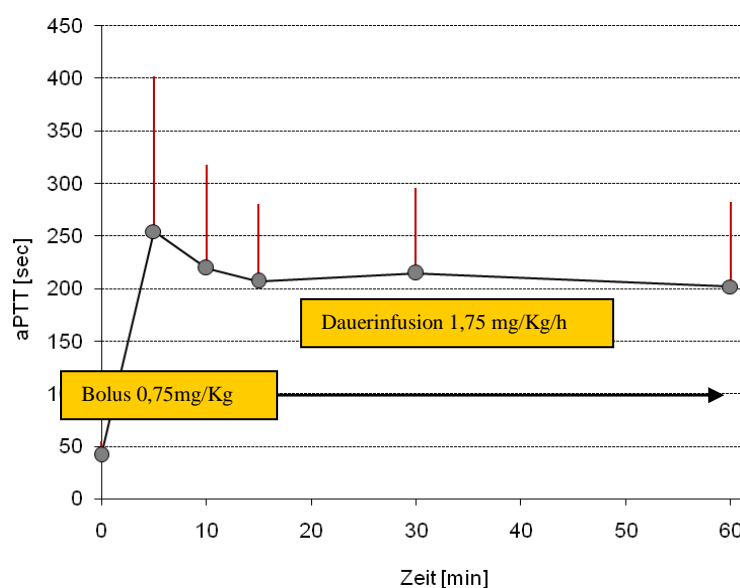


Abbildung 15: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.

Zeitpunkt	vor	5'	10'	15'	30'	Ende
Mittelwert	41,3	254,3	219,2	206,8	214,1	201,6
Standardabweichung	13,4	147,6	98,6	73,2	81,5	80,8

Tabelle 7: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.

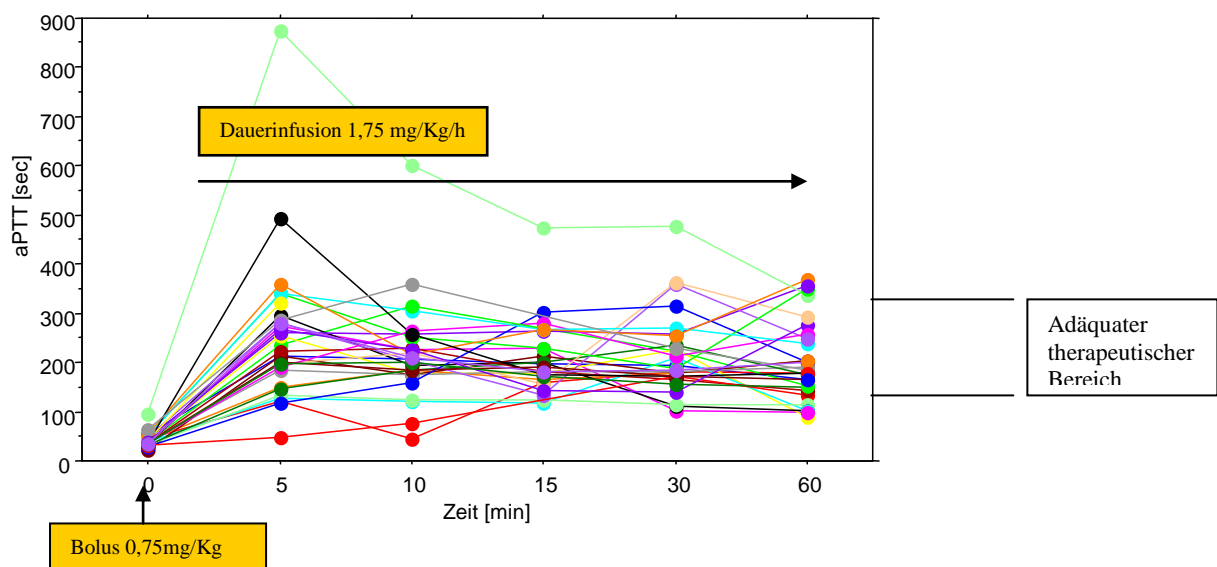


Abbildung 16: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, absolute Werte aller Patienten zu allen Zeitpunkten.

### 3.2.3 ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry - Monitoring

Die thromboelastometrische Untersuchung erlaubt die Beurteilung insbesondere der Gerinnselfestigkeit und stellt eine weitere Möglichkeit des Monitorings im Verlauf von Koronarinterventionen dar.

Die Abbildungen 17, 18 und 19 zeigen die Gerinnungszeit, die Gerinnselfestigkeit sowie die maximale Gerinnselfestigkeit zu 3 festgesetzten Zeitpunkten. Vor der Bivalirudin-Bolusgabe, nach 10 Minuten und am Ende der Intervention. Auch in diesem Monitoringverfahren zeigt sich eine deutliche interindividuelle Variabilität im Bezug auf die Gerinnungszeit und die Gerinnselfestigkeit.

Die Gerinnselfestigkeit bleibt jedoch über den gesamten Verlauf der Intervention unverändert. Somit hat Bivalirudin keinen Einfluss auf die maximale Gerinnselfestigkeit.

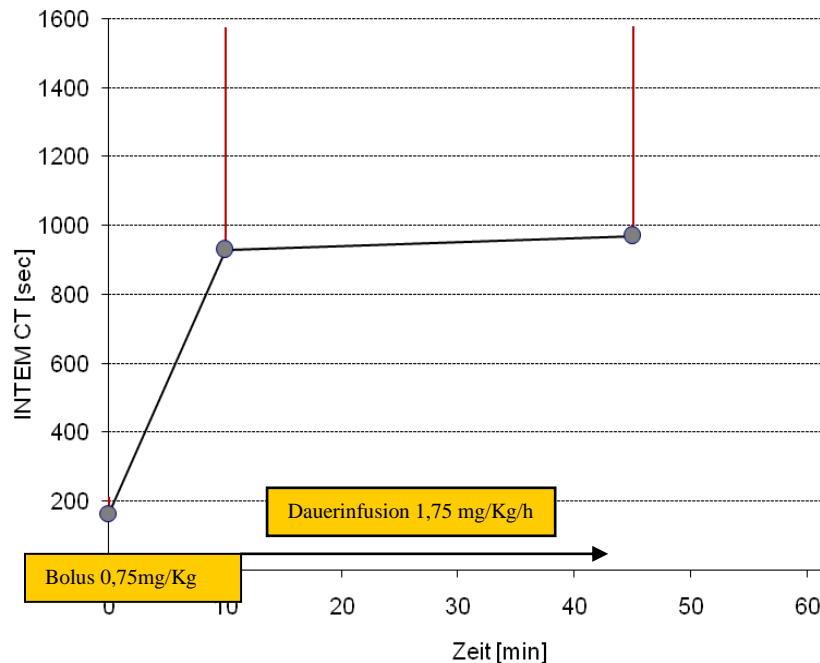


Abbildung 17 ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

Zeitpunkt	vor	10´	Ende
Mittelwert	164,6	928,9	969,6
Standardabweichung	45,5	645,4	607,3

Tabelle 8: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

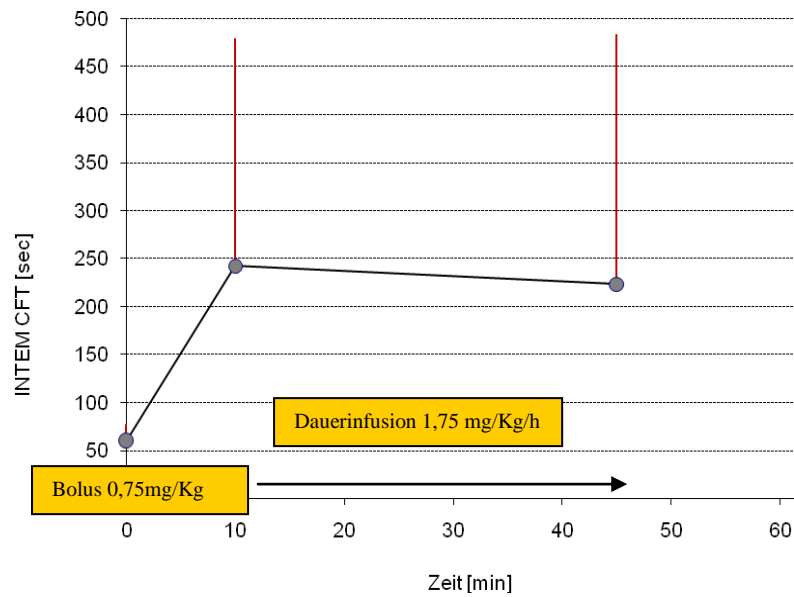


Abbildung 18: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

Zeitpunkt	vor	10'	Ende
Mittelwert	59,9	242,4	223,6
Standardabweichung	17,7	237,6	259,7

Tabelle 9: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

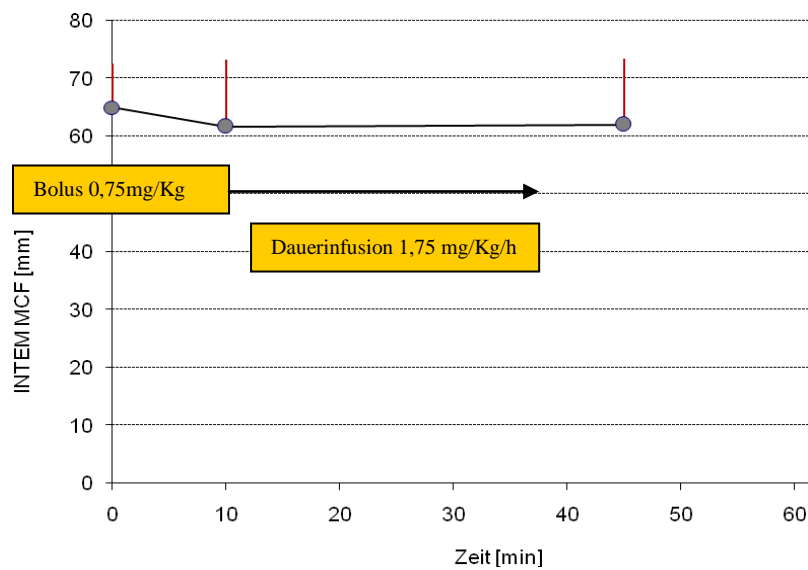


Abbildung 19: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

Zeitpunkt	vor	10´	Ende
Mittelwert	64,9	61,7	62
Standardabweichung	7,7	11,5	11,4

Tabelle 10: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention

### 3.2.4 Ecarin clotting time (ECT) - Monitoring

Abbildung 20 zeigt das ECT-Monitoring der Bivalirudingruppe. Man erkennt einen adäquaten Anstieg der ECT nach Bolusgabe, sowie einen konstanten Wirkspiegel des Bivalirudins im gesamten Verlauf der Intervention. Die Mittelwerte und die Standardabweichung bleiben nahezu unverändert, sodass man davon ausgehen kann, dass die ECT der geeignetste Monitoringtest für direkte Thrombinhemmer darstellt.

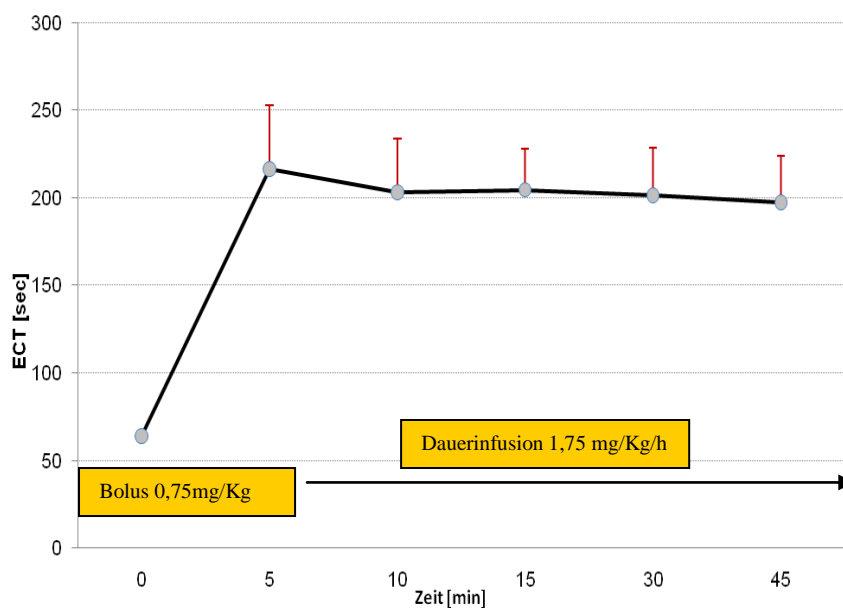


Abbildung 20: ECT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

Zeitpunkt	Vor	5'	10'	15'	30'	Ende
Mittelwert	63,8	216,3	203	204,5	201,5	197,4
Standardabweichung	2,7	36,5	30,4	23,3	26,9	26,7

Tabelle 11: ECT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

### 3.2.5 Prothrombinase induced clotting time (PiCT) - Monitoring

Abbildung 28 zeigt ein ähnliches Bild wie das ECT-Monitoring. Durch die Prothrombinase induzierte Gerinnung erkennt man ebenfalls einen adäquaten Anstieg der PiCT nach Bolusgabe, sowie einen konstanten Wirkspiegel des Bivalirudins im Verlauf der Intervention.

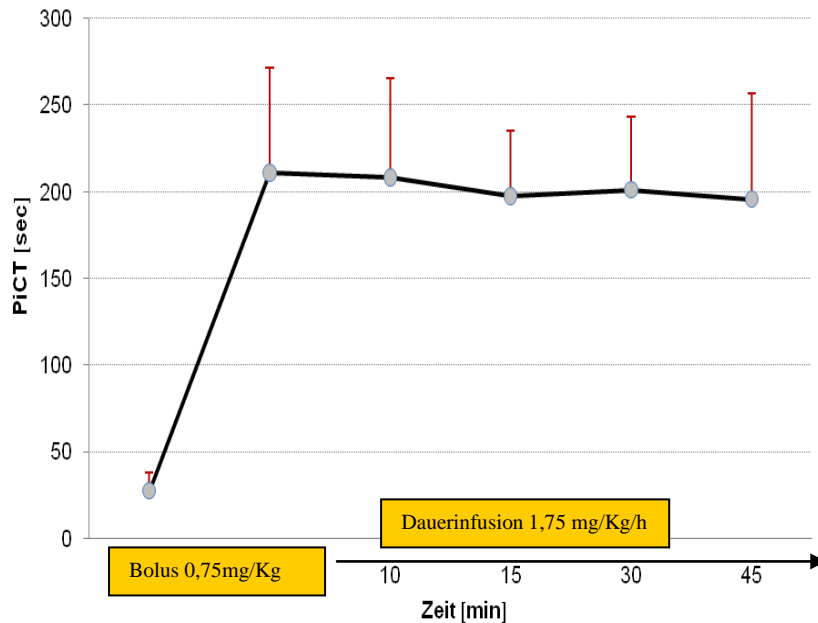


Abbildung 21: PiCT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

Zeitpunkt	vor	5'	10'	15'	30'	Ende
Mittelwert	27,4	210,8	208,1	197,4	201,1	195,6
Standardabweichung	10,6	60,7	57,4	37,7	41,9	61,2

Tabelle 12: PiCT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

### 3.2.6 Einflußvariablen als Ursache der interindividuellen Variabilität

Aufgrund der teilweise starken interindividuellen Streuung der Gerinnungszeiten zu allen Zeitpunkten der Intervention und in allen durchgeführten Testverfahren, sollten spezielle Einflußvariablen als Ursache ausgeschlossen werden. Zu den untersuchten Variablen gehören das Gewicht, der Body-Mass-Index (BMI) und das Blutvolumen der Patienten.

Hierzu wurde die „point of care“ – ACT- Monitoringzeit mit der jeweiligen Variable korreliert.

Da die größte Streuung bei allen Monitoringverfahren zum Zeitpunkt  $t = 5$  Minuten vorlag, wurde dieser mit den Variablen korreliert.

Die Abbildungen 22, 23 und 24 zeigen, dass die ACT und somit auch die anderen Monitoringverfahren, nicht mit dem Gewicht, dem BMI oder dem Blutvolumen der Probanden korrelieren.

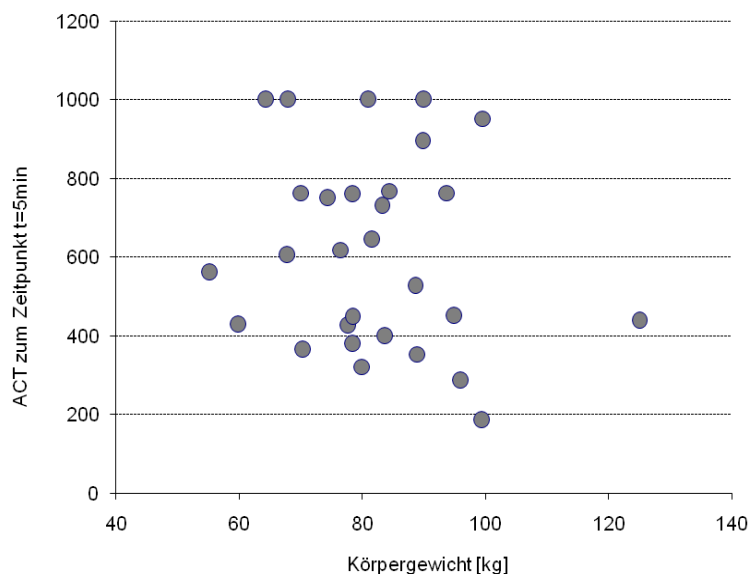


Abbildung 22: Korrelation der ACT ( $t = 5'$ ) mit dem Körpergewicht



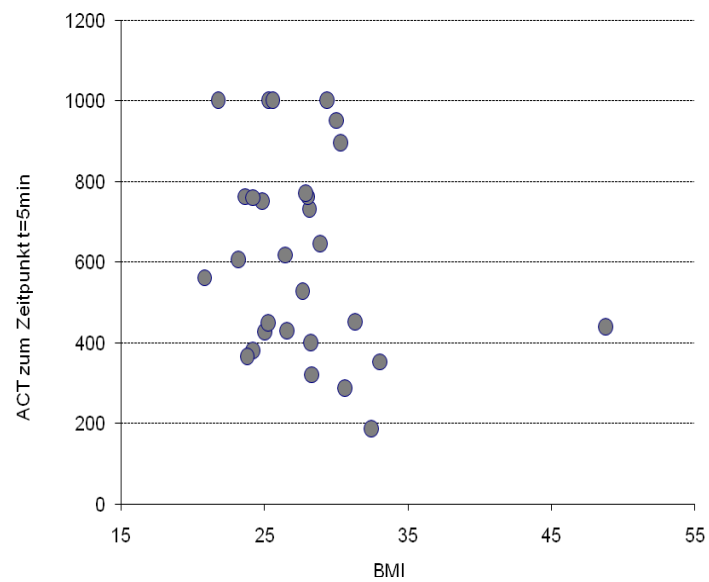


Abbildung 23: Korrelation der ACT ( $t = 5'$ ) mit dem Body-Mass-Index (BMI)

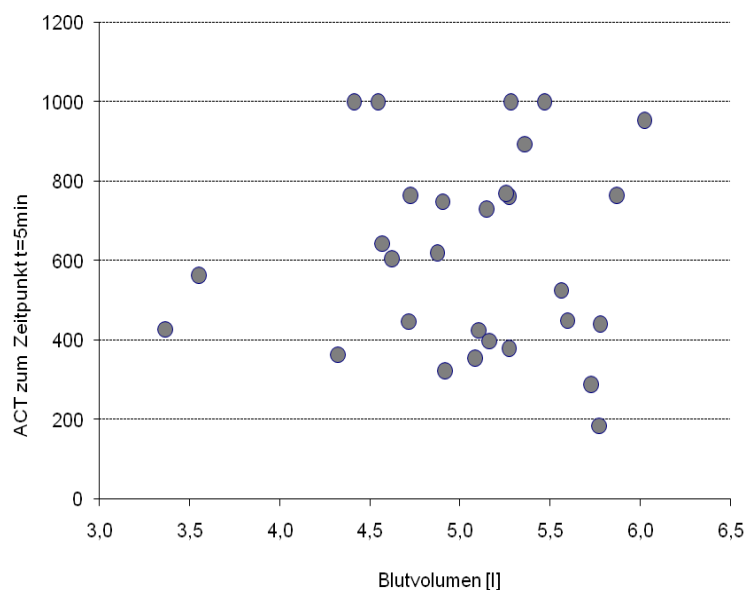


Abbildung 24: Korrelation der ACT ( $t = 5'$ ) mit dem Blutvolumen

### 3.3 Korrelation der unterschiedlichen Monitoringverfahren der Bivalirudinpatienten

#### 3.3.1 Korrelation activated clotting time (ACT) / aPTT

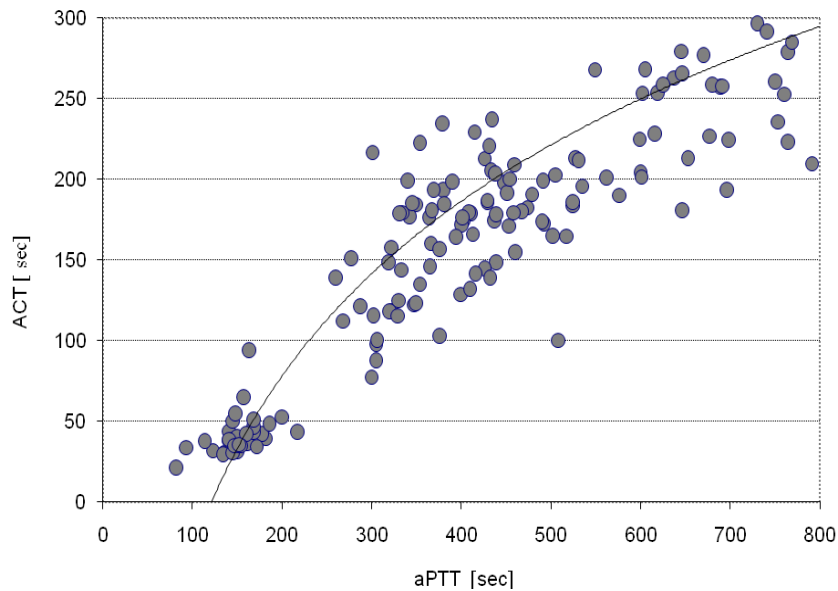


Abbildung 25: Korrelation ACT/aPTT

#### 3.3.2 Korrelation activated clotting time (ACT) / ROTEM (in-TEM) clotting time

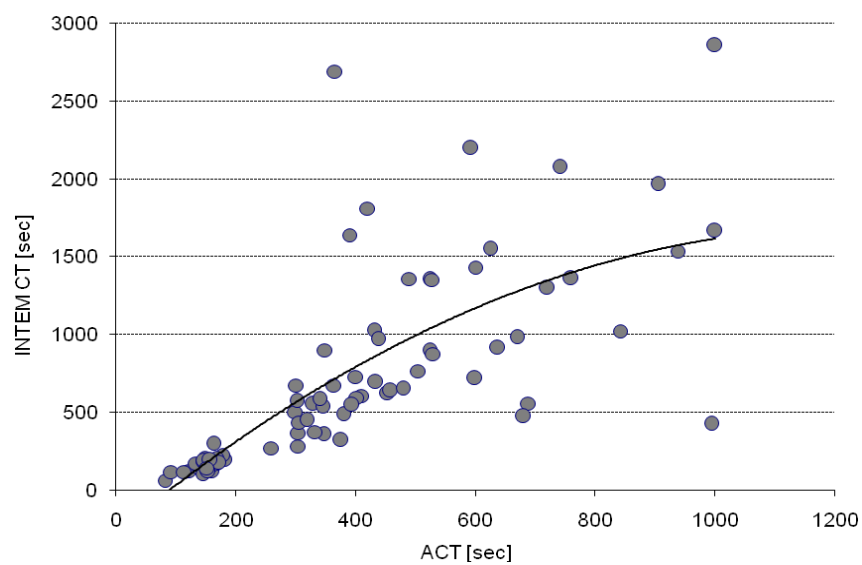


Abbildung 26: Korrelation ACT/ROTEM (in-TEM)-CT

### 3.3.3 Korrelation activated clotting time (ACT) / ecarin clotting time (ECT)

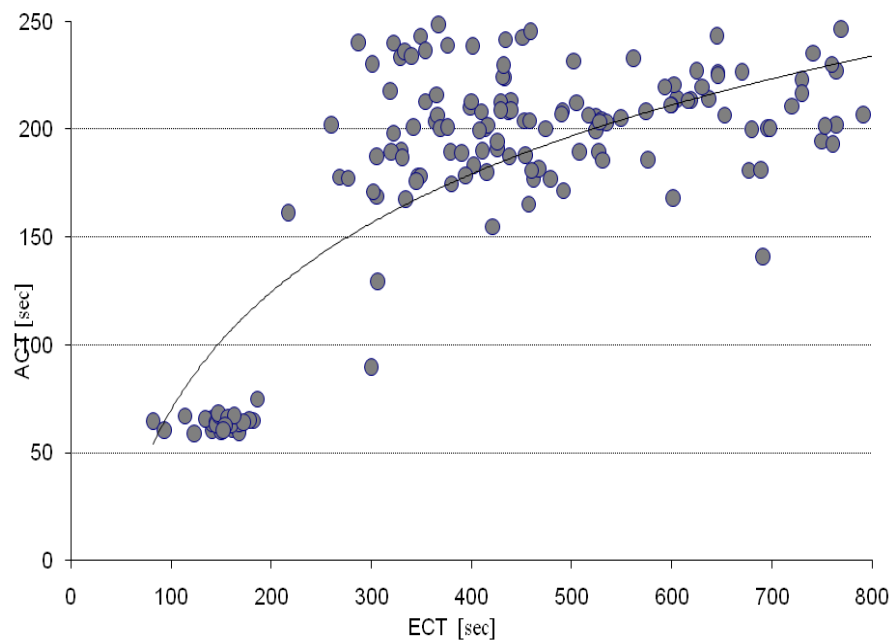


Abbildung 27: Korrelation ACT/ECT

### 3.3.4 Korrelation activated clotting time (ACT) / prothrombinase induced clotting time (PiCT)

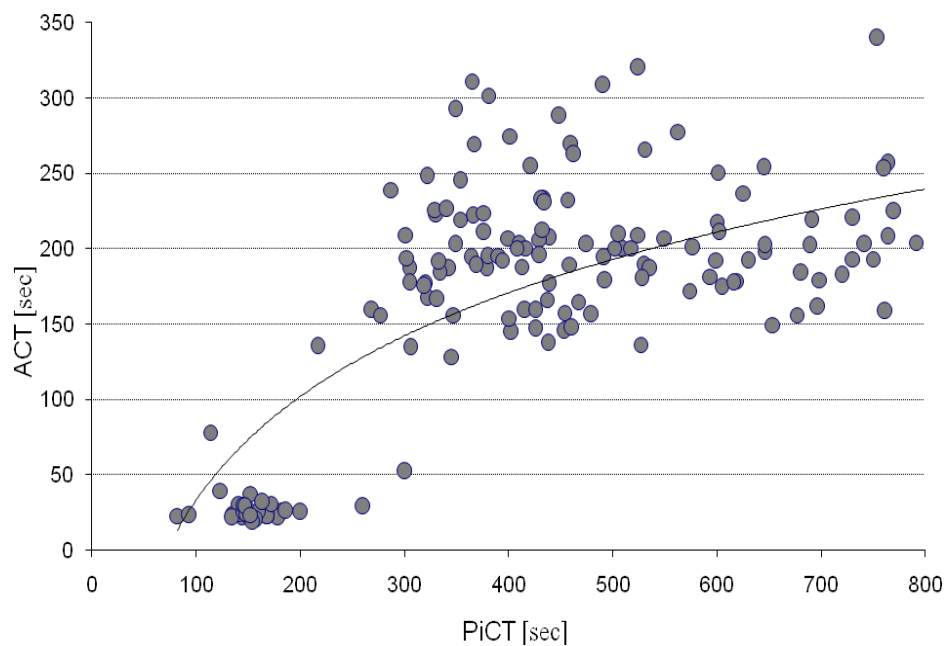


Abbildung 28: Korrelation ACT/PiCT

### 3.3.5 Korrelation aPTT / ecarin clotting time (ECT)

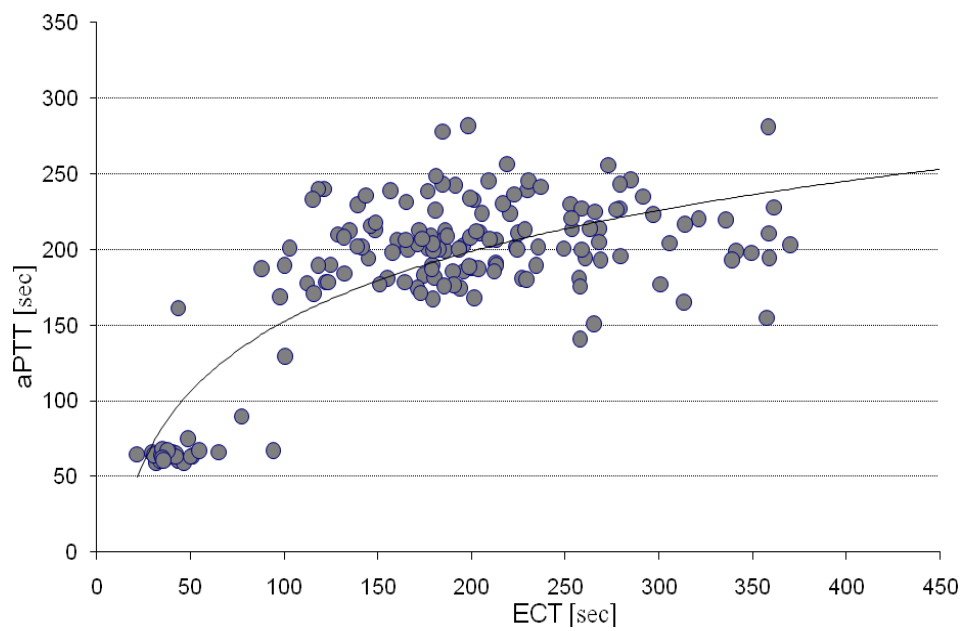


Abbildung 29: Korrelation aPTT /ECT

### 3.3.6 Korrelation aPTT / prothrombinase induced clotting time (PiCT)

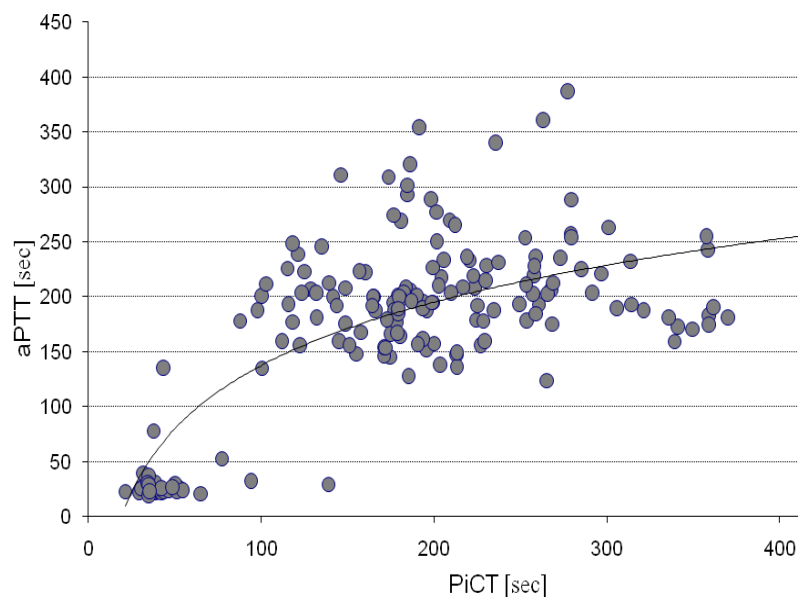


Abbildung 30: Korrelation aPTT/PiCT

### 3.3.7 Korrelation ecarin clotting time (ECT) / prothrombinase induced clotting time (PiCT)

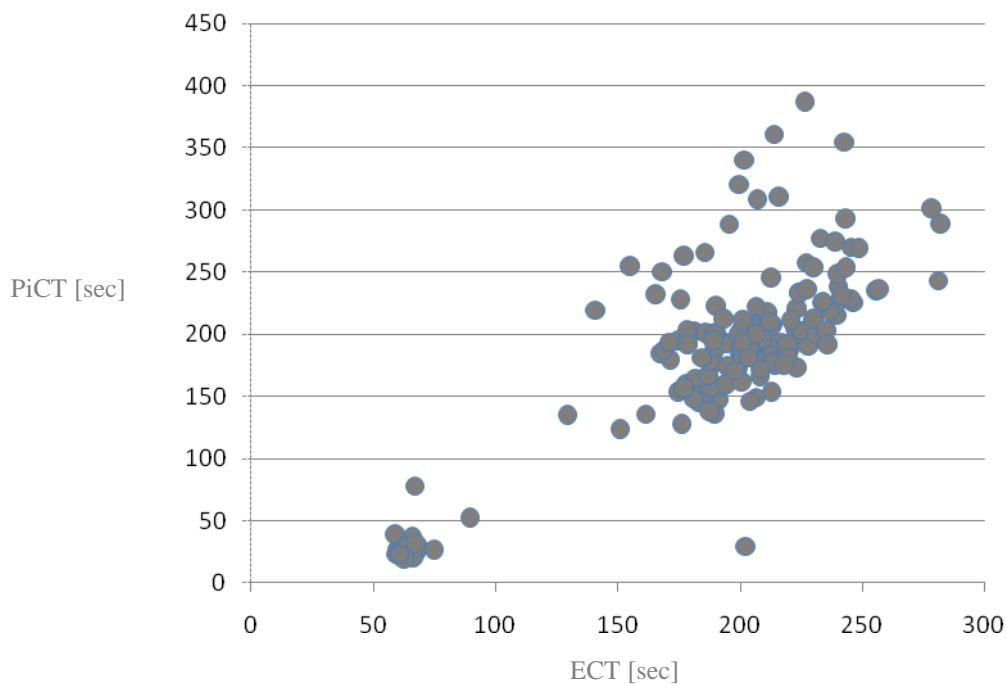


Abbildung 31: Korrelation ECT/PiCT - Mittelwerte

Die Abbildung 31 zeigt die Korrelation der ECT- und der PiCT- Werte. Ein Patient hat von Beginn an einen höheren PiCT-Ausgangswert, sodass Messschwankungen, insbesondere gegen Ende der Intervention, vorliegen, diese allerdings, im Verhältnis zu den anderen Patienten, im Verlauf adäquat ansteigend.

### 3.4 Laborchemisches Monitoring der Heparinpatienten

#### 3.4.1 "Point of care" – activated clotting time (ACT) - Monitoring

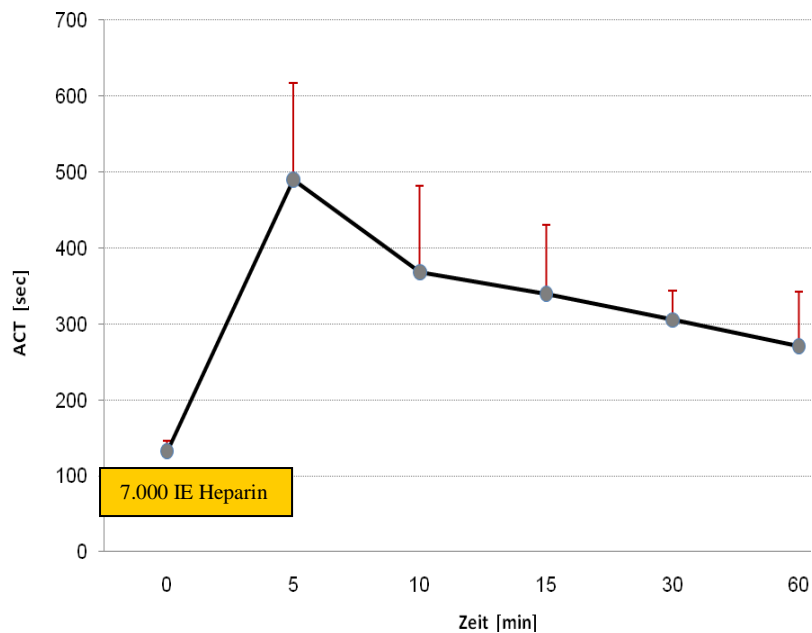


Abbildung 32: ACT-Monitoring der HeparinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.

Zeitpunkt	Vor	5'	10'	15'	30'	Ende
Mittelwert	132.5	490	367	339,7	305,2	271
Standardabweichung	14	126,7	113,5	91,3	39,1	71,4

Tabelle 13: ACT-Monitoring der HeparinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

### 3.4.2 aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) – Monitoring

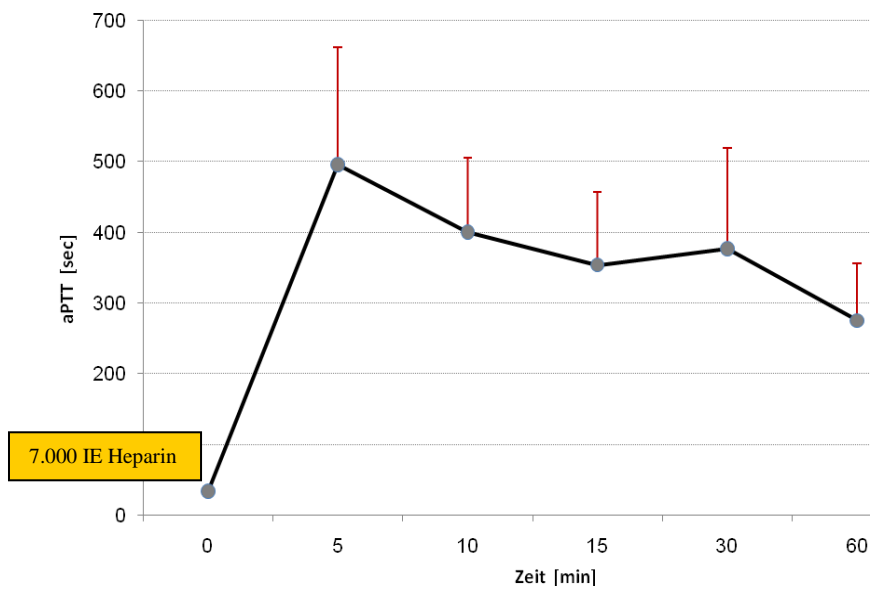


Abbildung 33: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

Zeitpunkt	Vor	5'	10'	15'	30'	Ende
Mittelwert	33,9	495,7	400,7	353,8	376,7	275,3
Standardabweichung	3,7	165,9	104,1	103	142,6	81,3

Tabelle 14: aPTT-Monitoring der HeparinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung

### 3.4.3 ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry – Monitoring

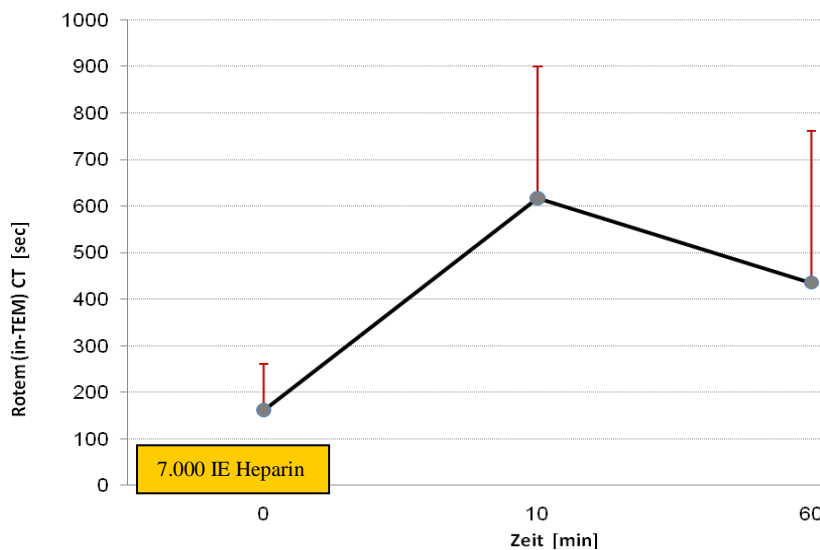


Abbildung 34: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

Zeitpunkt	Vor	10´	Ende
Mittelwert	161,6	616,4	435,8
Standardabweichung	99,1	282,9	326,2

Tabelle 15: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.



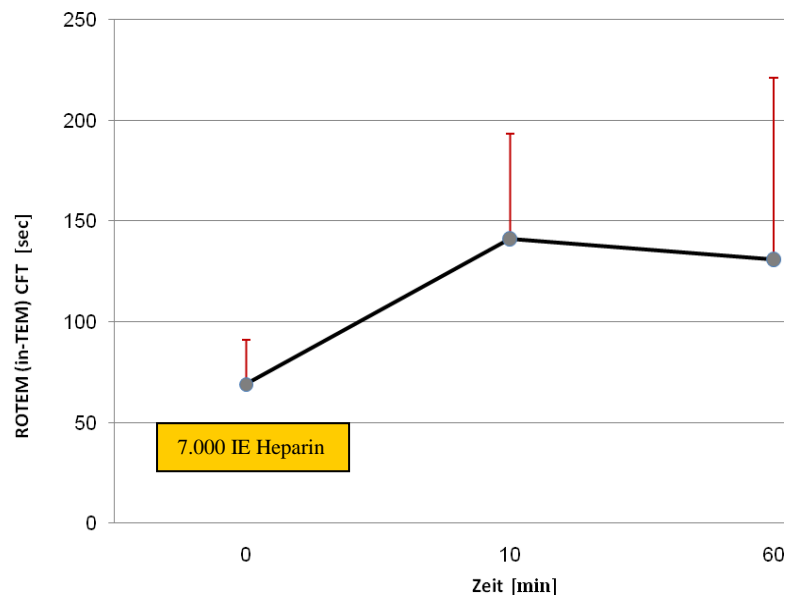


Abbildung 35: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

Zeitpunkt	Vor	10'	Ende
Mittelwert	68,9	141,1	131
Standardabweichung	21,9	51,9	90,1

Tabelle 16: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

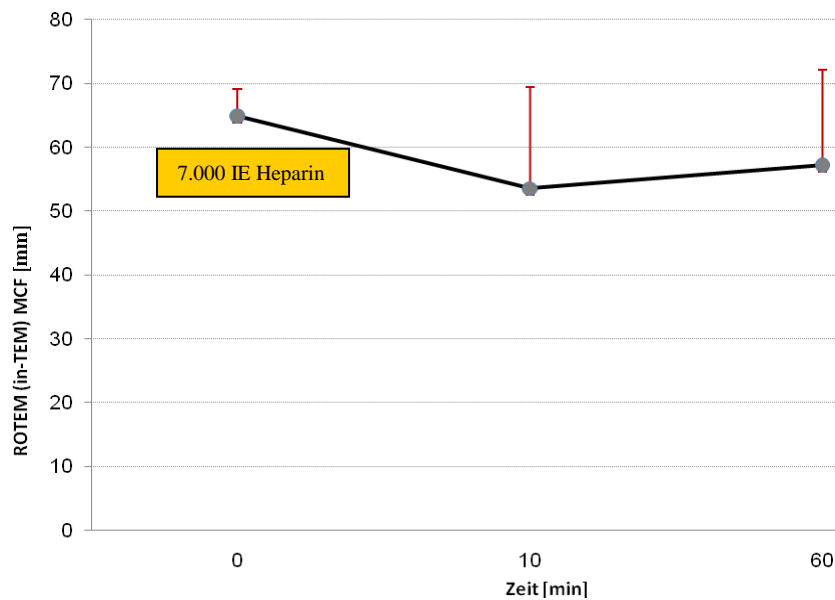


Abbildung 36: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

Zeitpunkt	Vor	10'	Ende
Mittelwert	64,9	53,5	57,2
Standardabweichung	4,2	15,9	14,9

Tabelle 17: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.

### 3.4.4 Korrelation der ACT / aPTT in der HeparinGruppe

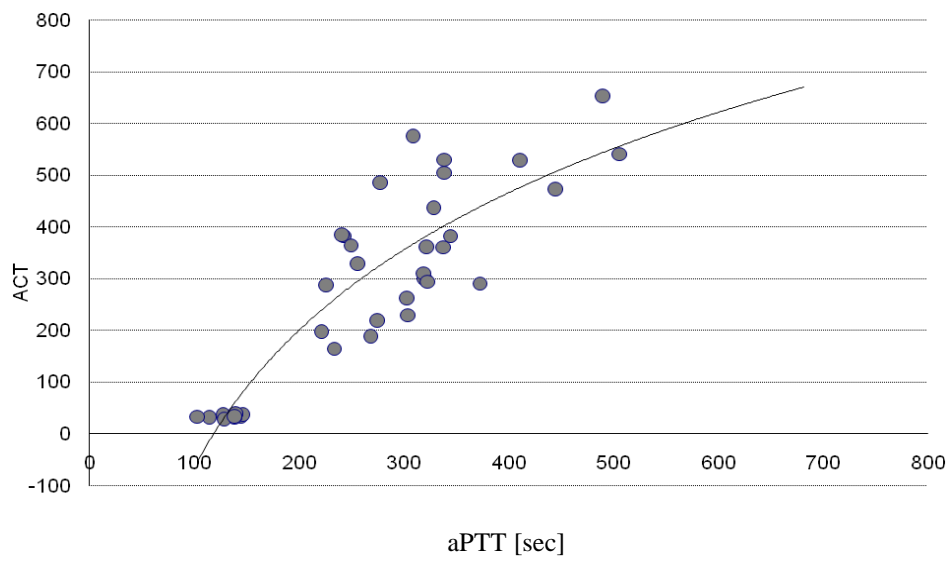


Abbildung 37: Korrelation der ACT / aPTT in der HeparinGruppe

### 3.5 Einfluss auf die thrombozytäre Funktion

#### 3.5.1 Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Bivalirudin

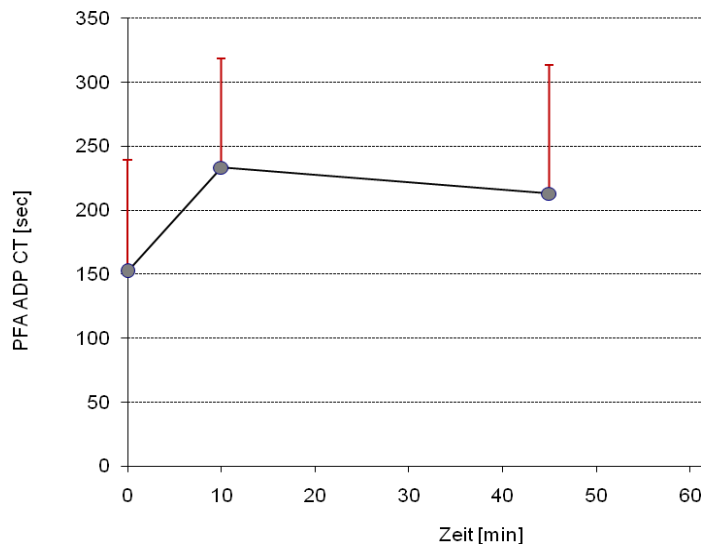


Abbildung 38: *in-vitro* Blutungszeit im PFA-ADP (clotting time), Mittelwerte und Standardabweichung

Abbildung 38 zeigt die PFA-ADP-Mittelwerte in Sekunden aller Patienten die Bivalirudin erhalten haben. Man erkennt einen deutlichen additiven Effekt des Bivalirudin auf die bereits bestehende Vormedikation mit ASS und Clopidogrel, sodass von einem Effekt auf die thrombozytäre Funktion ausgegangen werden muss. Auch hier ist allerdings eine deutliche interindividuelle Variabilität in den Gerinnungszeiten zu erkennen.

### 3.5.2 Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Heparin

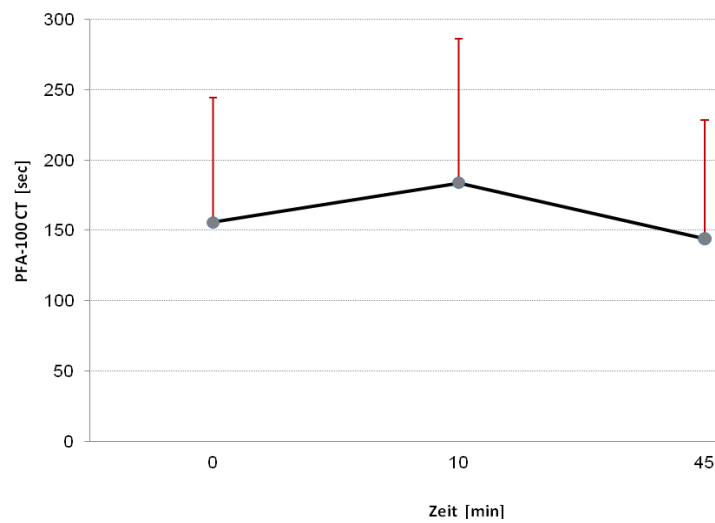


Abbildung 39: *in-vitro* Blutungszeit (Heparin) / PFA-ADP clotting time, Mittelwerte und Standardabweichung

Die Abbildung 39 zeigt die Wirkung des Heparin auf die thrombozytäre Funktion. Man erkennt keinen signifikanten Einfluss auf die Thrombozyten im Gegensatz zu Bivalirudin. (siehe Abb. 38)

## 3.6 In-Vitro-Diagnostik

### 3.6.1 Dosis-Wirkungs-Kurven des Bivalirudin

Die Dosis-Wirkungs-Kurven in vitro für Bivalirudin für die aPTT und den Quick wurden mit Hilfe von geometrischen Verdünnungsreihen hergestellt. Bivalirudin zeigt eine lineare dosis- und konzentrationsabhängige, antikoagulatorische Wirkung.

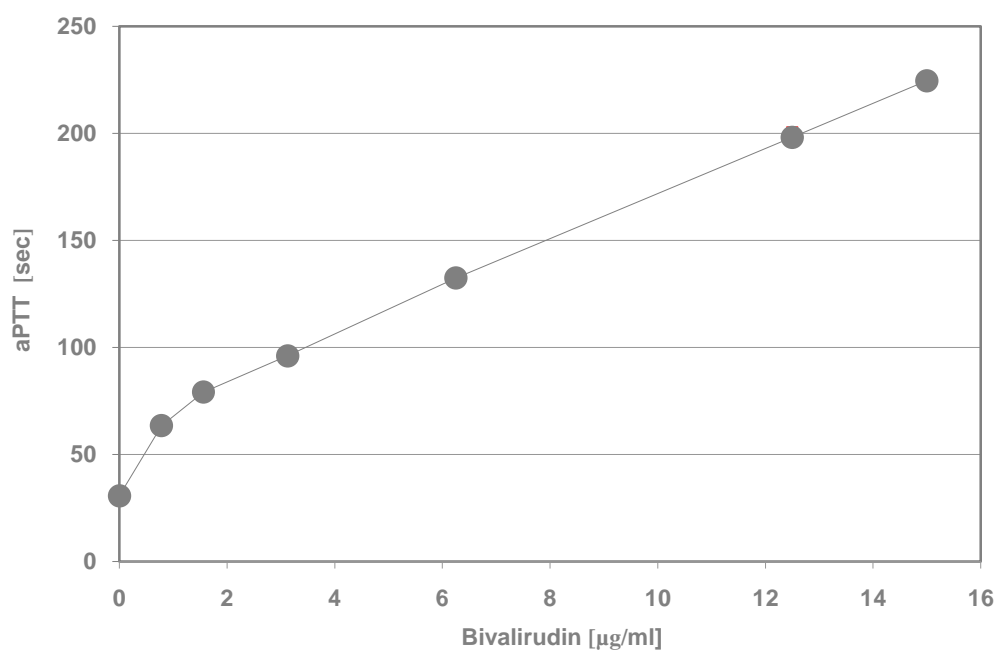


Abbildung 40: aPTT- Dosis-Wirkungskurve

	0	0,78	1,56	3,125	6,25	12,5	15
Mittelwert	30,6	63,4	79,1	96	132,35	198,1	224,5
Standardabweichung	1,41	0,14	0,56	1,13	0,07	4,53	2,83

Tabelle 18: aPTT- Dosis-Wirkungskurve, Mittelwerte und Standardabweichung

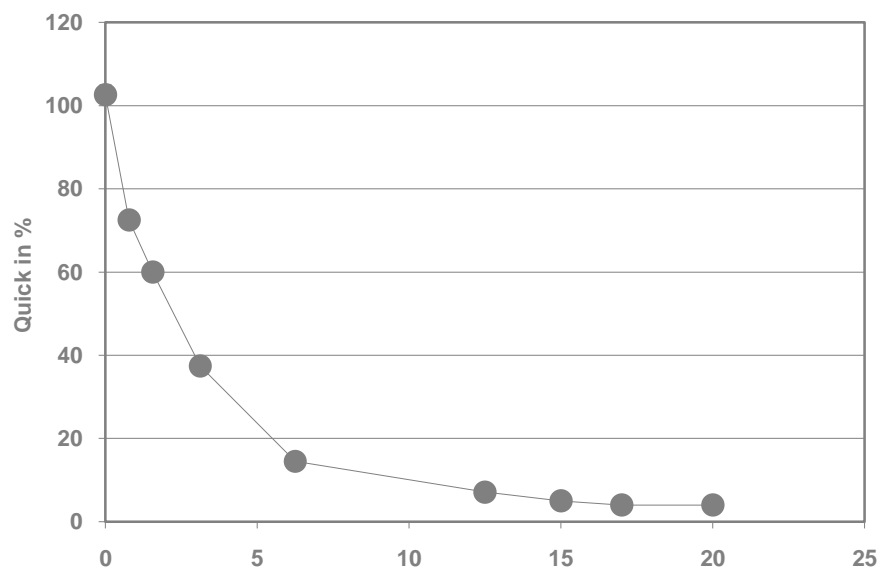


Abbildung 41: Quick in % - Dosis-Wirkungskurve

	0	0,78	1,56	3,125	6,25	12,5	15	17	20
Mittelwert	102,06	72,5	60	37,4	14,5	7,1	5	4	4
Standardabweichung	2,1	0,7	0	0,57	0,64	0,14	0	0	0

Tabelle 19: Quick in % - Dosis-Wirkungskurve, Mittelwerte und Standardabweichung

### 3.6.2 Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Bivalirudin in-Vitro

Abbildung 42 zeigt den direkten Effekt des Bivalirudin auf die thrombozytäre Funktion in-Vitro. Nachdem 20 µg Bivalirudin in Patientenvollblut (n= 10), ohne Vormedikation, dazupipetiert wird erkennt man einen signifikanten Anstieg der Verschlusszeit im PFA-100 ADP/Kollagen-Messgerät (Mittelwerte).

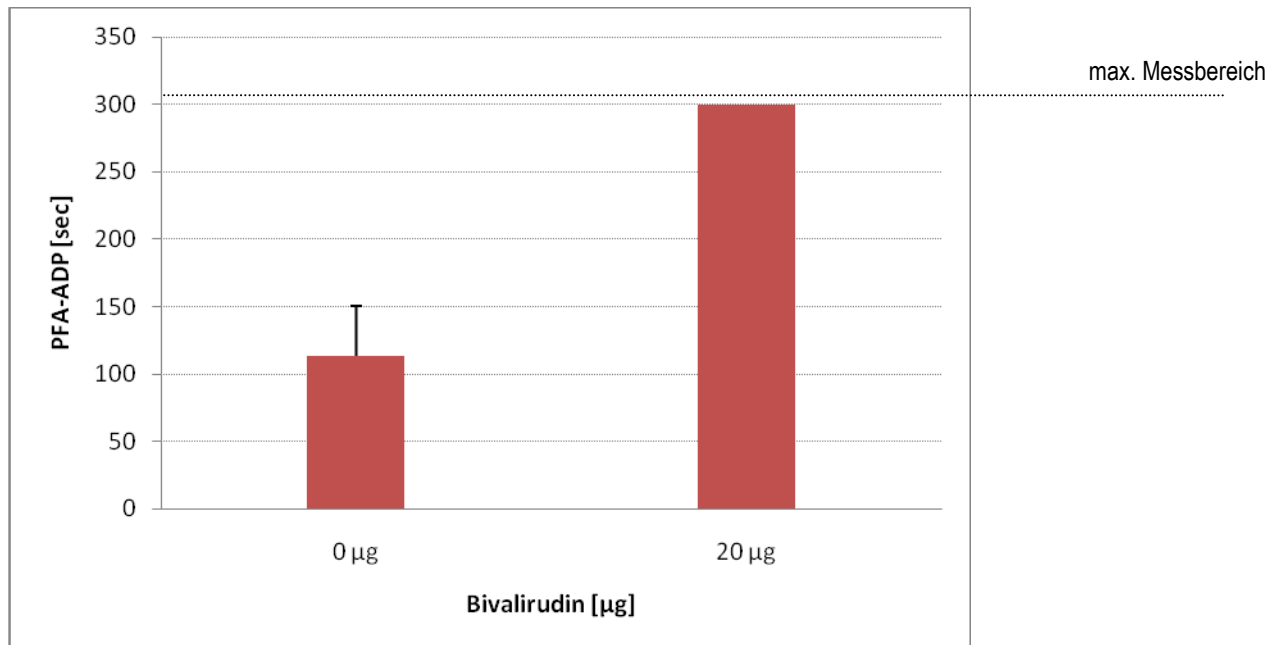


Abbildung 42: Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Bivalirudin in-Vitro, Mittelwerte



## 4 Diskussion

Die Hämostase stellt ein komplexes, ineinandergreifendes, zellbasiertes Modell der Blutgerinnung dar, in dem Thrombin eine zentrale Rolle übernimmt. Die selektive Hemmung dieses Schlüsselenzyms ist heutzutage ein essentieller Bestandteil im klinischen Alltag. Hierfür gibt es zahlreiche Indikationen zur Einleitung einer Antikoagulation, beispielsweise im Rahmen einer invasiven, kardialen Diagnostik, wie der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA), zur Verhinderung sowohl ischämischer als auch thrombotischer Komplikationen. In den letzten Jahren wurde daher ein vermehrtes Interesse auf die Möglichkeiten einer direkten Thrombinantagonisierung gelegt, um so möglichst effektiv in den Gerinnungsprozess eingreifen zu können.

Das Ziel eines solchen periinterventionellen Gerinnungsmanagements ist daher das schnelle Erkennen von Ursachen, die eine zielgerichtete Therapie erfordern um Komplikationen vermeiden zu können.

Hierbei spielen unterschiedliche Monitoringverfahren eine entscheidende Rolle, insbesondere hämostaseologische Point-of-Care (POC-) -Verfahren.

Vor allem bei der Steuerung der Antikoagulation mittels Heparin und Hirudin haben sich diese POC-Verfahren durchgesetzt und als sehr sinnvoll erwiesen. Diese werden allerdings durch vielfältige Veränderungen im Hämostasesystem kompliziert. Pharmakodynamische und pharmakokinetische Einflussfaktoren stellen dabei die größte Herausforderung dar.

Ursachen hierfür sind beispielsweise vorbestehende Gerinnungsstörungen, wie angeborene Defekte (Faktorenmangel, Willebrand-Syndrom, etc.), thrombozytäre Störungen, oder Leber- und Nierenfunktionseinschränkungen, die einen entscheidenden Einfluss auf die Hämostase haben können und damit das periinterventionelle Gerinnungsmanagement erschweren können.

Zu den bisher verwendeten laborchemischen Monitoringverfahren für direkte Thrombinhemmer zählen insbesondere die Ecarin-Clotting-Time (ECT), die Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und Modifikationen der aktivierten Gerinnungszeit (ACT). Es stellt sich die Frage, ob diese Tests eine ausreichende Sensitivität und Spezifität besitzen, um direkte Thrombinhemmer, wie Bivalirudin, im therapeutischen Bereich, zu überwachen.

Ein wichtiger Nachteil dieser Monitoringverfahren ist, dass sie bei gleicher Dosierung große, interindividuelle Schwankungen aufweisen können.

Eine systematische Korrelation verschiedener Verfahren wurde bislang für direkte Thrombinhemmer, wie Bivalirudin, nicht durchgeführt. Desweiteren stellt sich die Frage ob ein signifikanter Einfluss auf die thrombozytäre Funktion zu erkennen ist, da Thrombin einen entscheidenden Einfluss auf die thrombozytäre Hämostase besitzt und somit ein direkt messbarer Einfluss zu erwarten wäre.

Die Analyse der unterschiedlichen Messmethoden sowie die systematische Korrelation der unterschiedlichen Monitoringverfahren, im Rahmen dieser Arbeit, zeigt eine starke interindividuelle Variabilität. Die Ecarin-Clotting-Time (ECT) stellt hierbei die sensitivste und spezifischste Messmethode zur Überwachung der direkten Thrombinantagonisierung dar. Man erkennt einen adäquaten Anstieg der Gerinnungszeit nach Applikation der Substanz gefolgt von einem stabilen „steady-state“-im Laufe der Intervention, mit geringen Meßschwankungen. Ein ähnliches Bild findet sich bei der Prothrombinase-induzierten Gerinnungszeit, welches ebenfalls eine sensitive Meßmethode für direkte Thrombinhemmer darstellt.

Da die PiCT eine hohe Korrelation der Gerinnungswerte zwischen direkten Thrombinhemmern und Heparin zeigt, stellt sie das laborchemische Monitoringverfahren dar, um sowohl Patienten mit unfractioniertem Heparin (UFH), als auch mit direkten Thrombinhemmern, während beispielsweise Koronarinterventionen, zu überwachen.

Die übrigen Gerinnungsmeßmethoden wie die aktivierte Gerinnungszeit (ACT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) sowie die Thrombelastometrie (ROTEG) stellen Monitoringverfahren dar, die zur Überwachung herangezogen werden können, allerdings mit einer deutlichen interindividuellen Variabilität einhergehen. Diese deutlichen Schwankungen, zu allen Messzeiten, konnten nicht sicher spezifiziert werden. Ein möglicher Einfluß durch Parameter, wie dem Körpergewicht, dem Blutvolumen oder dem BMI der Patienten konnte weitestgehend ausgeschlossen werden. Hier zeigte sich keine Korrelation mit den unterschiedlichen Gerinnungszeiten. Wahrscheinlich spielen pharmakokinetische Parameter eine entscheidende Rolle, wie beispielsweise Leberfunktionsstörungen, Nierenfunktions-einschränkungen, thrombozytäre Funktionsstörungen oder die Co-Medikation der Patienten. Für ein Monitoring einer Heparintherapie können diese Verfahren hingegen gut herangezogen werden, wobei hier ebenfalls eine deutliche interindividuelle Variabilität zu erkennen ist.

Um den Einfluss des Bivalirudin auf die thrombozytäre Funktion zu untersuchen wurden spezifische Thrombozytenfunktionsmessungen durchgeführt. Aufgrund der Voraussetzung dass alle untersuchten Patienten eine Vormedikation mit zwei Thrombozytenaggregationshemmern erhielten (ASS und Clopidogrel) konnte nur ein möglicher additiver Effekt des Bivalirudin auf die thrombozytäre Funktion untersucht werden.

In den einzelnen Patientenproben der POC-Abnahmen zeigten sich in der PFA-Messmethode 2 unterschiedliche Gruppen. Etwa die Hälfte der Proben zeigte unter Bivalirudin eine deutliche Erhöhung der Gerinnungszeit ( $> 300\text{sec}$ ), wobei eine weitere Gruppe identifiziert werden konnte, die keinen deutlichen Anstieg gezeigt hatte. Auch hier spielen vermutlich pharmakodynamische und

pharmakokinetische Einflussfaktoren eine wesentliche Rolle. Einen signifikanten Effekt kann man trotzdem auf die thrombozytäre Funktion erkennen.

Um genauer untersuchen zu können, ob ein additiver Effekt des Bivalirudin messbar ist, wurde Bivalirudin, in vitro, zu Proben eines Normalkollektives, in steigenden Konzentrationen, dazupipettiert. Die Gabe von Clopidogrel war in diesem Versuchsaufbau nicht möglich, da Clopidogrel ein Prodrug darstellt.

Nach Auswertung der Ergebnisse scheint Bivalirudin, sowohl in vivo, als auch in vitro, einen additiven Effekt auf die thrombozytäre Gerinnung haben, im Gegensatz zu Heparin, welches als indirekter Thrombinhemmer keinen direkten Einfluß auf die thrombozytäre Gerinnung ausübt.

## 5 Zusammenfassung

Patienten, die sich einer invasiven kardiologischen Diagnostik unterziehen erhalten eine periinterventionelle, präventive, antithrombotische Therapie, um eingriffsbedingte ischämische und thrombotische Komplikationen zu verhindern.

Thrombin, welches eine zentrale Rolle im Hämostaseprozess spielt, stellt einen entscheidenden Ansatzpunkt für die Pharmakotherapie zur Verhinderung thrombotischer Komplikationen dar. Durch die Möglichkeit einer direkten Thrombinantagonisierung mit Bivalirudin gelingt es, im Vergleich zur bisherigen Standardmedikation mit Heparin (indirekter Thrombinhemmer), selektiv und effektiv in den Gerinnungsprozess einzugreifen. Hierbei konnten mehrere klinische Studien belegen, dass Bivalirudin mit einem besseren Schutz vor ischämischen Ereignissen, bei gleichzeitig reduziertem Blutungsrisiko einhergeht. Zur Verhinderung von Komplikationen, durch das schnelle Erkennen von Über- und Unterdosierungen und folglich Einleitung einer zielgerichteten Therapie kommen periinterventionellen Monitoringverfahren hierbei eine wichtige Bedeutung im Gerinnungsmanagement zu.

In dieser Arbeit wurde die Wirkung des Bivalirudin, anhand von Proben elektiver PTCA-Patienten, zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Intervention (vor Intervention, während der Intervention sowie am Ende der Intervention), in verschiedenen gerinnungsphysiologischen Meßmethoden miteinander verglichen und korreliert.

Die Ecarin-Clotting-Time (ECT) stellt hierbei die sensitivste und spezifischste Messmethode zur Überwachung der direkten Thrombinantagonisierung dar. Man erkennt einen adäquaten Anstieg der Gerinnungszeit nach Applikation der Substanz gefolgt von einem stabilen „steady-state“-im Laufe der Intervention, mit geringen Schwankungen der Plasmaspiegel. Da die Prothrombinase induzierte Gerinnungszeit (PiCT) eine hohe Korrelation der Gerinnungswerte zwischen direkten Thrombinhemmern und Heparin zeigt, stellt sie das laborchemische Monitoringverfahren dar, um sowohl Patienten mit unfraktioniertem Heparin, als auch mit direkten Thrombinhemmern zu überwachen.

Die übrigen Gerinnungsmeßmethoden wie die aktivierte Gerinnungszeit (ACT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) sowie die Thrombelastometrie (ROTEG) stellen Monitoringverfahren dar, die weniger Spezifität für die direkten Thrombinhemmer zeigen und mit einer deutlichen interindividuellen Variabilität einhergehen. Andererseits kann in diesen Verfahren die gesamte Hämostasekapazität der jeweiligen Patienten besser abgebildet werden.

Um den Einfluss des Bivalirudin auf die thrombozytäre Funktion zu untersuchen wurden spezifische Thrombozytenfunktionsmessungen durchgeführt. Aufgrund der Voraussetzung dass alle untersuchten Patienten eine Vormedikation mit zwei Thrombozytenaggregationshemmern erhielten (ASS und Clopidogrel) konnte ein möglicher additiver Effekt des Bivalirudin auf die thrombozytäre Funktion untersucht werden. Bivalirudin zeigt, im Gegensatz zu Heparin, sowohl in vivo, als auch in vitro, einen zusätzlichen additiven Effekt auf die thrombozytäre Gerinnung.

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Arbeit die Überlegenheit der direkt Thrombin-abhängigen gerinnungsphysiologischen Methoden zum Monitoring therapeutischer Inhibitoren bestätigt werden.

Weiterhin konnte die additive Hemmung der Thrombozytenfunktion durch die direkte Thrombinhemmung, unter Behandlung mit Thrombozytenhemmstoffen, gezeigt werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. **Aggarwal A, Sobel BE, Schneider DJ.** Decreased platelet reactivity in blood anticoagulated with bivalirudin or enoxaparin compared with unfractionated heparin: implications for coronary intervention. *J Thromb Thrombolysis* 2002 Jun;13(3):161-165.
2. **Ahrens I, Smith BK, Bode C, Peter K.** Direct thrombin inhibition with bivalirudin as an antithrombotic strategy in general and interventional cardiology. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007 Aug;3(4):609-620.
3. **Ashby B.** Kinetic evidence indicating separate stimulatory and inhibitory prostaglandin receptors on platelet membranes. *J Cyclic Nucleotide Protein Phosphor Res* 1986;11(4):291-300.
4. **Baker T, Chan R, Hill F.** Anticoagulant monitoring techniques in a heparin-induced thrombocytopenia patient undergoing cardiopulmonary bypass using bivalirudin anticoagulant. *J Extra Corpor Technol* 2004 Dec;36(4):371-374.
5. **Bates ER.** Clinical trial results with hirudin and bivalirudin for acute coronary artery syndromes. *Semin Thromb Hemost* 1997;23(6):575-581.
6. **Bates SM, Weitz JI.** Direct thrombin inhibitors for treatment of arterial thrombosis: potential differences between bivalirudin and hirudin. *Am J Cardiol* 1998 Oct 22;82(8B):12P-18P.
7. **Becker R.** Bivalirudin, Thrombin and Plateletes: Clinical Implications and Future Directions. *J Invasive Cardiol* 2003:1-15.
8. **Bhambhani A, Meier B.** Bivalirudin: a new promising direct antithrombin. *Indian Heart J* 2007 May-Jun;59(3):288-294.
9. **Bittl JA, Chaitman BR, Feit F, Kimball W, Topol EJ.** Bivalirudin versus heparin during coronary angioplasty for unstable or postinfarction angina: Final report reanalysis of the Bivalirudin Angioplasty Study. *Am Heart J* 2001 Dec;142(6):952-959.

**10.Brass LF.** Issues in the development of thrombin receptor antagonists. *Thromb Haemost* 1995 Jul;74(1):499-505.

**11.Brummel KE, Paradis SG, Butenas S, Mann KG.** Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation. *Blood* 2002 Jul 1;100(1):148-152.

**12.Calatzis A, Leitner M, Panzer S.** Monitoring anticoagulation of primary haemostasis--estimation of platelet function in whole blood assays. *Hamostaseologie* 2009 Aug;29(3):279-284.

**13.Caron MF, McKendall GR.** Bivalirudin in percutaneous coronary intervention. *Am J Health Syst Pharm* 2003 Sep 15;60(18):1841-1849.

**14.Carroll RC, Chavez JJ, Simmons JW, Snider CC, Wortham DC, Bresee SJ, et al.** Measurement of patients' bivalirudin plasma levels by a thrombelastograph ecarin clotting time assay: a comparison to a standard activated clotting time. *Anesth Analg* 2006 May;102(5):1316-1319.

**15.Cheneau E, Canos D, Kuchulakanti PK, Rha SW, Satler LF, Suddath WO, et al.** Value of monitoring activated clotting time when bivalirudin is used as the sole anticoagulation agent for percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2004 Sep 15;94(6):789-792.

**16.Chesebro JH, Badimon L, Fuster V.** Importance of antithrombin therapy during coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1991 May;17(6 Suppl B):96B-100B.

**17.Cohen DJ, Lincoff AM, Lavelle TA, Chen HL, Bakhai A, Berezin RH, et al.** Economic evaluation of bivalirudin with provisional glycoprotein IIB/IIIA inhibition versus heparin with routine glycoprotein IIB/IIIA inhibition for percutaneous coronary intervention: results from the REPLACE-2 trial. *J Am Coll Cardiol* 2004 Nov 2;44(9):1792-1800.

**18.Colwell CW, Jr., Spiro TE, Trowbridge AA, Stephens JW, Gardiner GA, Jr., Ritter MA.** Efficacy and safety of enoxaparin versus unfractionated heparin for prevention of deep venous thrombosis after elective knee arthroplasty. *Enoxaparin Clinical Trial Group. Clin Orthop Relat Res* 1995 Dec(321):19-27.

**19.Coste P, Labeque JN, Leroux L, Laplace G, Jais C, Gerbaud E, et al.** [Direct thrombin inhibitors in coronary angioplasty. Value of bivalirudin ]. Arch Mal Coeur Vaiss 2006 Feb;99 Spec no.3:11-15.

**20.de Denus S, Spinler SA.** Clinical monitoring of direct thrombin inhibitors using the ecarin clotting time. Pharmacotherapy 2002 Apr;22(4):433-435.

**21.de Feyter P.** Bivalirudin: a direct thrombin inhibitor used during percutaneous coronary intervention. Future Cardiol 2005 Nov;1(6):735-741.

**22.Feit F, Manoukian SV, Ebrahimi R, Pollack CV, Ohman EM, Attubato MJ, et al.** Safety and efficacy of bivalirudin monotherapy in patients with diabetes mellitus and acute coronary syndromes: a report from the ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage Strategy) trial. J Am Coll Cardiol 2008 Apr 29;51(17):1645-1652.

**23.Fenyvesi T, Jorg I, Harenberg J.** Monitoring of anticoagulant effects of direct thrombin inhibitors. Semin Thromb Hemost 2002 Aug;28(4):361-368.

**24.Fries D, Innerhofer P, Klingler A, Berresheim U, Mittermayr M, Calatzis A, et al.** The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: an in vitro study using thrombelastograph coagulation analysis (ROTEG. Anesth Analg 2002 May;94(5):1280-1287, table of contents.

**25.Gladwell TD.** Bivalirudin: a direct thrombin inhibitor. Clin Ther 2002 Jan;24(1):38-58.

**26.Gosselin RC, Dager WE, King JH, Janatpour K, Mahackian K, Larkin EC, et al.** Effect of direct thrombin inhibitors, bivalirudin, lepirudin, and argatroban, on prothrombin time and INR values. Am J Clin Pathol 2004 Apr;121(4):593-599.

**27.Graff J, Picard-Willems B, Harder S.** Monitoring effects of direct FXa-inhibitors with a new one-step prothrombinase-induced clotting time (PiCT) assay: comparative in vitro investigation with heparin, enoxaparin, fondaparinux and DX 9065a. Int J Clin Pharmacol Ther 2007 Apr;45(4):237-243.



**28.Hafner G, Roser M, Nauck M.** Methods for the monitoring of direct thrombin inhibitors. *Semin Thromb Hemost* 2002 Oct;28(5):425-430.

**29.Hartmann F.** Safety and efficacy of bivalirudin in acute coronary syndromes. *Curr Pharm Des* 2008;14(12):1191-1196.

**30.Koster A, Chew D, Grundel M, Bauer M, Kuppe H, Spiess BD.** Bivalirudin monitored with the ecarin clotting time for anticoagulation during cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2003 Feb;96(2):383-386, table of contents.

**31.Lee MS, Makkar RR.** Bivalirudin in acute coronary syndromes and percutaneous coronary intervention. *Rev Cardiovasc Med* 2006;7 Suppl 3:S27-34.

**32.Lehman SJ, Chew DP.** Bivalirudin in percutaneous coronary intervention. *Vasc Health Risk Manag* 2006;2(4):357-363.

**33.Lincoff AM, Bittl JA, Harrington RA, Feit F, Kleiman NS, Jackman JD, et al.** Bivalirudin and provisional glycoprotein IIb/IIIa blockade compared with heparin and planned glycoprotein IIb/IIIa blockade during percutaneous coronary intervention: REPLACE-2 randomized trial. *JAMA* 2003 Feb 19;289(7):853-863.

**34.Lincoff AM, Bittl JA, Kleiman NS, Sarembock IJ, Jackman JD, Mehta S, et al.** Comparison of bivalirudin versus heparin during percutaneous coronary intervention (the Randomized Evaluation of PCI Linking Angiomax to Reduced Clinical Events [REPLACE]-1 trial). *Am J Cardiol* 2004 May 1;93(9):1092-1096.

**35.Lincoff AM, Kleiman NS, Kereiakes DJ, Feit F, Bittl JA, Jackman JD, et al.** Long-term efficacy of bivalirudin and provisional glycoprotein IIb/IIIa blockade vs heparin and planned glycoprotein IIb/IIIa blockade during percutaneous coronary revascularization: REPLACE-2 randomized trial. *JAMA* 2004 Aug 11;292(6):696-703.

**36.Lincoff AM, Kleiman NS, Kottke-Marchant K, Maierson ES, Maresh K, Wolski KE, et al.** Bivalirudin with planned or provisional abciximab versus low-dose heparin and abciximab during

percutaneous coronary revascularization: results of the Comparison of Abciximab Complications with Hirulog for Ischemic Events Trial (CACHET). Am Heart J 2002 May;143(5):847-853.

**37.Lincoff AM, Steinhubl SR, Manoukian SV, Chew D, Pollack CV, Jr., Feit F, et al.** Influence of timing of clopidogrel treatment on the efficacy and safety of bivalirudin in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: an analysis of the ACUTY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategY) trial. JACC Cardiovasc Interv 2008 Dec;1(6):639-648.

**38.Lui HK.** Dosage, pharmacological effects and clinical outcomes for bivalirudin in percutaneous coronary intervention. J Invasive Cardiol 2000 Dec;12 Suppl F:41F-52.

**39.Mann KG.** Biochemistry and physiology of blood coagulation. Thromb Haemost 1999 Aug;82(2):165-174.

**40.Maroo A, Lincoff AM.** Bivalirudin in PCI: an overview of the REPLACE-2 trial. Semin Thromb Hemost 2004 Jun;30(3):329-336.

**41.Montalescot G, Gallo R, White HD, Cohen M, Steg PG, Aylward PE, et al.** Enoxaparin versus unfractionated heparin in elective percutaneous coronary intervention 1-year results from the STEEPLE (SafeTy and efficacy of enoxaparin in percutaneous coronary intervention patients, an international randomized evaluation) trial. JACC Cardiovasc Interv 2009 Nov;2(11):1083-1091.

**42.Montalescot G, White HD, Gallo R, Cohen M, Steg PG, Aylward PE, et al.** Enoxaparin versus unfractionated heparin in elective percutaneous coronary intervention. N Engl J Med 2006 Sep 7;355(10):1006-1017.

**43.Nawarskas JJ, Anderson JR.** Bivalirudin: a new approach to anticoagulation. Heart Dis 2001 Mar-Apr;3(2):131-137.

**44.Nowak G.** Clinical monitoring of hirudin and direct thrombin inhibitors. Semin Thromb Hemost 2001 Oct;27(5):537-541.

**45.Ofosu FA.** Protease activated receptors 1 and 4 govern the responses of human platelets to thrombin. *Transfus Apher Sci* 2003 Jun;28(3):265-268.

**46.Preissner KT.** [Biochemistry and physiology of blood coagulation and fibrinolysis]. *Hamostaseologie* 2004 May;24(2):84-93.

**47.Rdzanek H.** [Commentary to the article: Montalescot G, White HD, Gallo R, et al. STEEPLE Investigators. Enoxaparin versus unfractionated heparin in elective percutaneous coronary intervention]. *Kardiol Pol* 2006 Oct;64(10):1150-1152; discussion 1152-1153.

**48.Reed MD, Bell D.** Clinical pharmacology of bivalirudin. *Pharmacotherapy* 2002 Jun;22(6 Pt 2):105S-111S.

**49.Salam AM.** Evolving role of bivalirudin in percutaneous coronary interventions; impact of the REPLACE-2 study. *Expert Opin Investig Drugs* 2003 Jun;12(6):1027-1033.

**50.Saw J, Lincoff AM, DeSmet W, Betriu A, Rutsch W, Wilcox RG, et al.** Lack of clopidogrel pretreatment effect on the relative efficacy of bivalirudin with provisional glycoprotein IIb/IIIa blockade compared to heparin with routine glycoprotein IIb/IIIa blockade: a REPLACE-2 substudy. *J Am Coll Cardiol* 2004 Sep 15;44(6):1194-1199.

**51.Sciulli TM, Mauro VF.** Pharmacology and clinical use of bivalirudin. *Ann Pharmacother* 2002 Jun;36(6):1028-1041.

**52.Shammas NW.** Bivalirudin: pharmacology and clinical applications. *Cardiovasc Drug Rev* 2005 Winter;23(4):345-360.

**53.Singh S, Molnar J, Arora R.** Efficacy and safety of bivalirudin versus heparins in reduction of cardiac outcomes in acute coronary syndrome and percutaneous coronary interventions. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2007 Dec;12(4):283-291.

**54.Spannagl M, Lill H, Trauner A, Schramm W.** [Individual laboratory control of anticoagulant therapy]. *Vasa Suppl* 1992;35:115-116.

**55.Spannagl M, Moessmer G.** [Global tests of haemostasis]. *Hamostaseologie* 2006 Jan;26(1):27-37.

**56.Stone GW, White HD, Ohman EM, Bertrand ME, Lincoff AM, McLaurin BT, et al.** Bivalirudin in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: a subgroup analysis from the Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategy (ACUITY) trial. *Lancet* 2007 Mar 17;369(9565):907-919.

**57.Warkentin TE.** Bivalent direct thrombin inhibitors: hirudin and bivalirudin. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004 Mar;17(1):105-125.

**58. Warkentin TE, Greinacher A, Koster A.** Bivalirudin. *Thromb Haemost* 2008 May;99(5):830-839.

**59.Warkentin TE, Koster A.** Bivalirudin: a review. *Expert Opin Pharmacother* 2005 Jul;6(8):1349-1371.

**60.Watson K, Seybert AL, Saul MI, Lee JS, Kane-Gill SL.** Comparison of patient outcomes with bivalirudin versus unfractionated heparin in percutaneous coronary intervention. *Pharmacotherapy* 2007 May;27(5):647-656.

**61.White HD.** Pharmacological and clinical profile of bivalirudin in the treatment of patients with acute coronary syndrome. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009 May;5(5):529-538.

**62.White HD, Chew DP, Hoekstra JW, Miller CD, Pollack CV, Jr., Feit F, et al.** Safety and efficacy of switching from either unfractionated heparin or enoxaparin to bivalirudin in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes managed with an invasive strategy: results from the ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategY) trial. *J Am Coll Cardiol* 2008 May 6;51(18):1734-1741.

**63.White HD, Ohman EM, Lincoff AM, Bertrand ME, Colombo A, McLaurin BT, et al.** Safety and efficacy of bivalirudin with and without glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients with acute coronary

syndromes undergoing percutaneous coronary intervention 1-year results from the ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategY) trial. J Am Coll Cardiol 2008 Sep 2;52(10):807-814.

**64.Wiggins BS, Spinler S, Wittkowsky AK, Stringer KA.** Bivalirudin: a direct thrombin inhibitor for percutaneous transluminal coronary angioplasty. Pharmacotherapy 2002 Aug;22(8):1007-1018.

**65.Zucker ML, Koster A, Prats J, Laduca FM.** Sensitivity of a modified ACT test to levels of bivalirudin used during cardiac surgery. J Extra Corpor Technol 2005 Dec;37(4):364-368.

## 7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eigenschaften des freien und gerinnselgebundenen Thrombins .....	10
Tabelle 2: Vergleich von direkten Thrombininhibitoren .....	12
Tabelle 3: Pharmakokinetische Parameter von Bivalirudin bei normaler und eingeschränkter Nierenfunktion .....	15
Tabelle 4: Vergleich Heparin mit Bivalirudin .....	17
Tabelle 5: Patientencharakterisierung.....	39
Tabelle 6: ACT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.....	40
Tabelle 7: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.....	42
Tabelle 8: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	43
Tabelle 9: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	44
Tabelle 10: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	45
Tabelle 11: ECT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	46
Tabelle 12: PiCT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.....	47
Tabelle 13: ACT-Monitoring der HeparinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	54
Tabelle 14: aPTT-Monitoring der HeparinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	55
Tabelle 15: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	56
Tabelle 16: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	57
Tabelle 17: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention.....	58
Tabelle 18: aPTT- Dosis-Wirkungskurve, Mittelwerte und Standardabweichung.....	62
Tabelle 19: Quick in % - Dosis-Wirkungskurve, Mittelwerte und Standardabweichung .....	63

## 8      **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Das heutige Koagulationsmodell .....	7
Abbildung 2: Mechanismus der PAR-Aktivierung durch Thrombin .....	9
Abbildung 3: Eigenschaften des freien und gerinnselgebundenen Thrombins .....	10
Abbildung 4: Wirkmechanismus des Bivalirudin .....	13
Abbildung 5: BAT- Studie (Bivalirudin Angioplasty Trial) – Ergebnisse .....	18
Abbildung 6: CACHET-Studie (Comparison of Abciximab Complications with Hirulog Ischemia Events Trial)	
- Ergebnisse .....	19
Abbildung 7: REPLACE-1-Studie (Randomized Evaluation of PCI Linking Angiomax to Reduced Clinical Events)	
- Ergebnisse .....	20
Abbildung 8: REPLACE-2-Studie- Ergebnisse .....	21
Abbildung 9: ACUITY-Studie – Ergebnisse .....	23
Abbildung 10: Überblick über verschiedene Monitoringverfahren von Thrombinhemmern .....	24
Abbildung 11: Prinzip ecarin clotting time (ECT) .....	36
Abbildung 12: Prinzip prothrombinase induced clotting time (PiCT) .....	37
Abbildung 13: ACT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	40
Abbildung 14: ACT-Monitoring der Bivalirudingruppe, absolute Werte aller Patienten zu allen Zeitpunkten.....	41
Abbildung 15: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	41
Abbildung 16: aPTT-Monitoring der Bivalirudingruppe, absolute Werte aller Patienten zu allen Zeitpunkten .....	42
Abbildung 17: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	43
Abbildung 18: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	44
Abbildung 19: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	45
Abbildung 20: ECT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	46
Abbildung 21: PiCT-Monitoring der Bivalirudingruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	47

Abbildung 22: Korrelation der ACT (t = 5 ' ) mit dem Körpergewicht .....	48
Abbildung 23: Korrelation der ACT (t = 5 ' ) mit dem Body-Mass-Index (BMI) .....	49
Abbildung 24: Korrelation der ACT (t = 5 ' ) mit dem Blutvolumen .....	49
Abbildung 25: Korrelation ACT/aPTT .....	50
Abbildung 26: Korrelation ACT/ROTEM (in-TEM)-CT .....	50
Abbildung 27: Korrelation ACT/ECT .....	51
Abbildung 28: Korrelation ACT/PiCT .....	51
Abbildung 29: Korrelation ECT/aPTT .....	52
Abbildung 30: Korrelation aPTT/PiCT .....	52
Abbildung 31: Korrelation ECT/PiCT – Mittelwerte .....	53
Abbildung 32: ACT-Monitoring der HeparinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung.....	54
Abbildung 33: aPTT-Monitoring der BivalirudinGruppe, Mittelwerte und Standardabweichung .....	55
Abbildung 34: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	56
Abbildung 35: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „clotting formation time“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	57
Abbildung 36: ROTEM/ in-TEM – Thromboelastometry, „maximum clot firmness“ zu den Zeitpunkten vor, nach 10 Minuten und nach der Intervention .....	58
Abbildung 37: Korrelation der ACT / aPTT in der HeparinGruppe .....	59
Abbildung 38: in-vitro Blutungszeit (Bivalirudin) im PFA-ADP, Mittelwerte und Standardabweichung .....	60
Abbildung 39: in-vitro Blutungszeit (Heparin) im PFA-ADP, Mittelwerte und Standardabweichung .....	61
Abbildung 40: aPTT- Dosis-Wirkungskurve .....	62
Abbildung 41: Quick- Dosis-Wirkungskurve .....	63
Abbildung 42: Beeinflussung der thrombozytären Funktion durch Bivalirudin in-Vitro .....	64



## 9 Abkürzungsverzeichnis

a	Aktiviert
ACT	Activated clotting time
ADP	Adenosindiphosphat
aPTT	Aktiviert partielle Thromboplastinzeit
Arg	Arginin
ASS	Acetylsalicylsäure
AT III	Antithrombin III
BCS	Behring Coagulation System
BMI	Body-mass-index (Kg/m <sup>2</sup> )
CaCl <sub>2</sub>	Calciumchlorid
CFT	Clotting formation time
CT	Clotting time
Da	Dalton (Molekülgewichtseinheit)
DTI	Direkte Thrombininhibitoren
ECMO	Extracorporale Membranoxygenierung
ECT	Ecarin clotting time
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
FI	Faktor I (Fibrinogen)
FII	Faktor II (Thrombin)
FIX	Faktor IX (antihämophiles Globulin B, Christmas-Faktor)
FV	Faktor V (Proaccelerin)
FVII	Faktor VII (Proconvertin)
FVIII	Faktor VIII (antihämophiles Globulin A)
FVIII:C	Faktor VIII-Gerinnungsaktivität

FX	Faktor X (Stuart-Prower-Faktor)
FXI	Faktor XI (PlasmaThromboplastin-Antecedent)
FXII	Faktor XII (Hagemann-Faktor)
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
Gly	Glycin
GP IIb/IIIa	Glyoprotein IIb/IIIa
HIT	Heparininduzierte Thrombozytopenie
HITTS	Heparininduziertes thrombozytopenisches Thrombose-Syndrom
i	Inaktiviert
INR	Internationale normalisierte Ratio
i.v.	Intravenös
KHK	Koronare Herzerkrankung
Ki	Affinitätsfaktor (Einheit fM)
Max	Maximalwert
MCF	Maximum clot firmness
Min	Minuten
Mittelw	Mittelwert
NaCl	Natrium-Chlorid
NMH	Niedermolekulares Heparin
PAR	Protease activated receptor
PF-4	Plättchenfaktor-4
PiCT	Prothrombinase induced clotting time
POC	Point-of-care
PT	Prothrombinzeit
PTCA	Perkutane transluminale Koronarangioplastie
Q	Quickwert (in %)

RVV	Russel's viper venom, spezifischer Faktor V-Aktivator
s.c.	Subcutan
Sec	Sekunden
Stabw	Standardabweichung
t	Zeit
TF	Tissue Factor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TT	Thrombinzeit
TPZ	Thromboplastinzeit
UFH	Unfraktioniertes Heparin
VT	Verschlusszeit
vWD	Von Willebrand-Erkrankung

## 10 Danksagung

Zunächst möchte ich meinen Eltern, und meiner Frau Mashaal für ihre fortwährende Unterstützung während der gesamten Dauer dieser Arbeit, meines Studiums sowie bisherigen beruflichen Werdeganges danken.

Mein Dank gilt außerdem allen, die zur Entstehung, Durchführung und Auswertung der Studie beigetragen haben.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. W. Schramm, der mir die Möglichkeit gab, die Untersuchungen in seiner Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie der Universität München durchzuführen. Ohne seine Ressourcen, den Einsatz seines medizinisch-technischen Personals sowie die labortechnische Ausrüstung seiner Abteilung wäre die Durchführung der Versuche nicht möglich gewesen.

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. M. Spannagl für die Annahme dieser Arbeit, die Betreuung und seine stete Hilfsbereitschaft in allen Belangen bedanken.

# 11 Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name	Ahmed Jawid Omary
Geburtsdatum	21.10.1980
Geburtsort	Kabul/Afghanistan
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

## Schulbildung

09/1987 – 07/1991	Grundschule an der Camerloherstrasse, München
09/1991 – 06/2000	Max-Planck-Gymnasium, München
	Abschluss mit dem Erreichen der allgemeinen Hochschulreife

## Hochschulausbildung

10/2001 – 06/2008	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
	06/2008: Approbation als Arzt

## Praktisches Jahr

08/2006 – 07/2007	Medizinische Klinik und Poliklinik I und II, Klinikum Grosshadern, München
	Chirurgische Klinik und Poliklinik, Klinikum Innenstadt, München
	Neurologische Klinik und Poliklinik, Klinikum Grosshadern, München

## Berufliche Tätigkeit

Seit 10/2008	Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II, Klinik für Innere Medizin, der Ludwig-Maximilians-Universität München, Direktor: Prof. Dr. med. B. Göke
--------------	--